Nicht einzeln im Buchhandel käuflich.

Ueberreicht vom Verfasser.

2

Ergebnisse der experimentellen Krebsforschung.

Von

E. F. Bashford, J. A. Murray und M. Haaland.

Mit 41 Figuren im Text.

Separatabdruck aus der

„Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie."

unter Mitwirkung von:

Erster Band. Viertes Heft. 1909.

(Ausgegeben am 20. Februar 1909.)

Verlag von **GUSTAV FISCHER** in Jena.

Die Abteilung **„Originale“** der **„Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie“** erscheint in zwangloser Folge. Die Arbeiten werden mit dem Eingangsdatum versehen; sie sollen möglichst rasch und stets auf einmal, nie in Fortsetzungen zum Abdruck gelangen. Für den Fall, daß vom Eingangstag der Arbeit bis zur Drucklegung des nächsten Heftes mehr als 4 Wochen vergehen, können Arbeiten auf Wunsch der Autoren auch einzeln zur Ausgabe an die Abonnenten gelangen.

Die Originalarbeiten können in deutscher, englischer oder französischer Sprache erscheinen. Die wesentlichen Ergebnisse sollen am Schluss der Mitteilungen kurz, jedoch nur in deutscher Sprache, zusammengefaßt werden.

Manuskriptsendungen sind an:

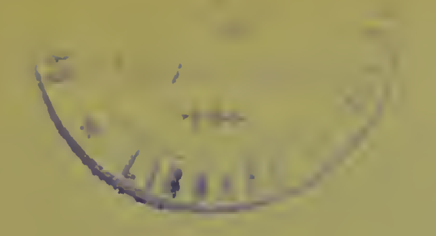
Herrn Prof. Dr. E. Friedberger, Berlin N.W. 7, Dorotheenstraße 34 a

oder auch an einen der 3 anderen Herren Herausgeber zu richten.

Das Mitarbeiter-Honorar beträgt 40 M. für den Bogen. Die Herren Mitarbeiter erhalten 50 Sonderabdrücke ihrer Arbeiten kostenlos.

Der Preis für den Band von 50 Druckbogen beträgt 18 M.

Inhalt des vierten Heftes:



[Aus dem Imperial Cancer Research, London:
Direktor: Dr. E. F. Bashford.]

Ergebnisse der experimentellen Krebsforschung.

Von **E. F. Bashford, J. A. Murray** und **M. Haaland.**

Mit 41 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Okt. 1908.)

Erster Teil.

Ueber das Wachstum überimpfter Tumoren.

Auf der von den pathologischen Anatomen und den Klinikern gelieferten Grundlage einer eingehenden Kenntnis der Morphologie und des Verlaufes der menschlichen Geschwülste sucht die moderne Krebsforschung durch breit angelegte vergleichend-pathologische Untersuchungen über das Vorkommen des Krebses sowohl in den verschiedenen Menschenrassen als auch im Tierreich, sowie durch systematische experimentelle Erforschung der Tierkrebse weiterzubauen. Hierdurch zeigt sich das Krebsproblem als ein allgemein biologisches, und die aus dem Studium menschlicher Tumoren entstandenen Fragen erscheinen erst hierdurch in ihrer richtigen Perspektive. Daß die Tumoren der kleinen Laboratoriumstiere, insbesondere diejenigen der Maus, mit denen sich die experimentelle Krebsforschung bisher hauptsächlich beschäftigt hat, als echte maligne Geschwülste aufzufassen sind, und daß deswegen den Resultaten der experimentellen Arbeit eine allgemeine Gültigkeit für das Krebsproblem überhaupt zukommt, darf jetzt als allgemein anerkannt werden. Die Uebertragbarkeit dieser Geschwülste ermöglicht, viele Probleme der Krebskrankheit, in die mit morphologischen Methoden nicht weiter eingedrungen werden konnte, von neuen Gesichtspunkten aus anzugreifen. Insbesondere sind unsere Kenntnisse der biologischen Eigen-

schaften der Geschwulstzellen durch die experimentelle Richtung der Krebsforschung wesentlich erweitert worden. Ferner ist es möglich, die Wachstumsbedingungen dieser Krebszellen im Wirtstiere experimentell zu studieren, namentlich die Bedingungen, die das Wachstum zu hemmen vermögen. Aber auch vom rein morphologischen Standpunkt aus sind interessante Tatsachen aus dem Studium der Tierkrebse zu erwarten, die für die menschliche Pathologie von Bedeutung sein dürften, z. B. die relative Unwesentlichkeit der histologischen Charaktere eines Tumors für die Urteile über Benignität oder Malignität.

Das histologische Studium der menschlichen Geschwülste ist meistenteils auf zufällige Entwicklungsstadien der Tumoren beschränkt, und der Entwicklungsgang eines Tumors kann nur durch Analogieschlüsse rekonstruiert werden. Man kann die Struktur des Tumors zur Zeit der Prüfung wohl bestimmen, wie sie aber früher war oder was aus ihr werden wird, ist nicht möglich festzustellen, wenige operativ entfernte Fälle ausgenommen. Dagegen hat das Studium künstlich fortgepflanzter Tumoren große Vorteile vor dem Studium der Tumoren beim Menschen, indem es gestattet, eine genaue Uebersicht ihres biologischen Verhaltens und histologischen Baues über ausgedehnte Zeitperioden zu gewinnen; wir haben so feststellen können, daß ein Wechsel zwischen „adenomatösen“ und solidem oder „carcinomatösem“ Bau und auch in umgekehrter Weise stattfindet[1]). Bei Spontantumoren des Menschen und der Mäuse findet man diese verschiedenen histologischen Bilder nebeneinander; bei den experimentellen Tumoren treten sie sowohl nebeneinander als auch getrennt in verschiedenen Tieren auf, und es läßt sich feststellen, daß die eine Form oft in die andere übergeht, ohne daß man die Tiere dafür verantwortlich machen kann. Das sind alles „Wachstumsformen“, die durch immanente und wechselnde Eigenschaften der Tumorzellen selbst bestimmt sind. Von den von uns eingehend beschriebenen „Wachstumsformen“, die fast jeder Tumorstamm derart durchmacht, daß z. B. bei einem Mammacarcinom zu verschiedenen Zeiten ein Wechsel zwischen

1) Second Scientific Report 1905. Third Scientific Report 1908 usw.

mehr ausgeprägtem acinösem, und mehr alveolärem, histologischen Bau stattfindet, behalten die Tumoren bei immer fortgeführter Fortpflanzung die besonderen Eigenheiten ihrer Histologie und ihres biologischen Verhaltens und nähern sich in keiner Weise einem allgemeinen Typus oder verschwimmen gar ineinander.

Unsere experimentelle Erfahrung ist eine sehr ausgedehnte, da wir, abgesehen von anderen Tieren, an Mäusematerial allein über 70 verschiedene transplantierbare Tumoren eingehend studiert haben. Wir verfügen zurzeit über 43 transplantable, kontinuierlich weiterwachsende Tumoren, darunter Plattenepithelkrebs der Haut, Carcinom und Adenocarcinom der Mamma in reicher Auswahl, auch Carcinoma sarcomatodes der Mamma, ferner Spindel-, Polymorph- und Osteo-chondrosarcomata. Obwohl wir vorläufig davon absehen, allgemeine Schlußfolgerungen zu ziehen, möchten wir einige der bisherigen Resultate zusammenfassen, die nicht ohne Bedeutung sein dürften, um viele scheinbare Widersprüche zwischen unseren und den Resultaten anderer Autoren aufzuklären. Trotz individueller Variationen bei einzelnen Stämmen tauchen gewisse Eigentümlichkeiten immer wieder auf, und darum halten wir dieselben, als von fundamentaler Bedeutung und für wesentliche Charakteristika der bösartigen Geschwülste.

1. Experimentelle Erzeugung der Läsionen und konstitutionelle Begleiterscheinungen von Krebs.

Wir haben die Probleme der menschlichen Pathologie fortdauernd im Auge behalten und unsere Versuchsanordnungen so gestaltet, diese möglichst genau bei Tieren künstlich nachzuahmen. Es war uns von Anfang an wohl bewußt, daß, wenn nicht gleiche Probleme zur experimentellen Lösung aufgestellt werden könnten, es unberechtigt wäre, Schlüsse auf die menschliche Pathologie zu übertragen.

Was das Uebertragen von Krebs durch Einimpfung betrifft, ist es klar, daß, wenn wir Stückchen eines Tumors oder eine größere Masse Tumorbrei unter die Haut einer Maus mittels einer hypodermischen Nadel bringen, diese

eingeimpften Zellen nicht so eingeführt sein können, daß sie das normale anatomische Verhältnis der Gewebe zueinander wiedergeben können, noch ist ein anatomisches Verhältnis ähnlich dem zwischen einer kleinen spontanen bösartigen Geschwulst und dem sie umgebenden Bindegewebe hergestellt. Selbst wenn wir alle Phasen der Krankheit, wie sie beim Menschen und anderen Säugetieren natürlich sich entwickeln, nicht experimentell hätten hervorrufen können, würde dies die große Wichtigkeit der Tatsache, daß wir Krebszellen züchten können, nicht verringern. Wäre es nur möglich gewesen, Krebszellen zu kultivieren, so wären wir immer noch in der Lage, den biologischen Unterschied zwischen den normalen und den Krebszellen zu studieren. Die einzige Bedingung von wirklicher Bedeutung ist, daß die Ausgangsmaterialien unserer Versuche wahre bösartige Geschwülste sind und nicht Tumorformationen irgendwelcher anderer Art, z. B. infektiöser Natur.

Wir sind aber in einer viel günstigeren Lage, indem die in gesunden Tieren wachsenden Geschwulstzellen imstande sind, alle die bei der natürlichen Krankheit vorkommenden Läsionen zu reproduzieren. Sie bilden nicht nur den primären Tumor an der Impfstelle, sondern sie besitzen, in den verschiedenen Geschwülsten mehr oder weniger ausgesprochen, die Fähigkeit, in die umgebenden Gewebe hineinzuwachsen und sich durch Blut- und Lymphgefäße weiterzuverbreiten, und in entfernten Organen neue Tochtergeschwülste zu bilden. Metastasen kommen, wenn geeignete Methoden angewandt werden, ebenso häufig vor und erreichen ebensowohl erhebliche Größe bei Mäusen mit eingeimpftem Krebs (Fig. 1) wie bei von Spontankrebs[1]) befallenen Mäusen oder Menschen. Infiltrierendes Wachstum ist stark ausgeprägt in gewissen Geschwulststämmen und tritt häufig auch bei den subkutanen transplantierten Tumoren auf, die dem unbewaffneten Auge als ganz eingekapselt erscheinen. Als eklatantes

1) Murray, Spontaneous Cancer in the Mouse; Histology, Metastases, Transplantability and the Relations of malignant new Growths to spontaneously affected Animals (Third Scientific Report of the Imperial Cancer Research Fund, p. 69—115).



Fig. 1. Lungen und Herz einer Maus mit transplantiertem Tumor (Mischgeschwulst, 13. Generation), 6 Monate nach der Impfung gestorben. Große metastatische Knoten von dem in menschlichem Krebs typischen Aussehen mit deutlicher Krebsnabel versehen, sowohl beiderseits in den Lungen (*l*) als auch im Herzen (*h*). Oben Ansicht von vorn, unten dieselbe von hinten. Photographie, 10 : 1.

Beispiel solchen infiltrativen Wachstums dient Fig. 2, die das Eindringen eines gewöhnlichen subkutan transplantierten Adenocarcinoms von außen in die Darmwand illustriert. Nebenbei ist ein spontanes, von der Darmschleimhaut ausgehendes Adenocarcinom abgebildet (Fig. 3). Diese Reproduktion des Verlaufes des spontanen Krebses im Versuchstier er-



Fig. 2. Transplantiertes Mammaadenocarcinom, den Dünndarm infiltrierend. Der primäre Impftumor saß subkutan, ist durch die Bauchwand gewachsen, hat eine adhärente Dünndarmschlinge von außen infiltriert und ist destruierend durch die Muscularis und Mucosa mit der Bildung eines carcinomatösen Ulcus gewachsen.

mutigt uns, das erschöpfende Studium aller Bedingungen, die in Verbindung mit dem Vor- oder Nichtvorkommen des infiltrierenden Wachstums und der Metastasenbildung stehen, beim überimpften Krebs anzugreifen, mit der Gewißheit, daß solches Wissen auf gleiche Läsionen beim Menschen neues Licht werfen wird. Die Möglichkeit, alle Phasen des Krebses

experimentell hervorrufen zu können, gibt uns dazu noch den großen Vorteil, konstitutionelle Bedingungen, die jenen bei spontan ergriffenen Tieren gleichen, in den geimpften Tieren studieren zu können, wie unsere Beobachtungen über Spontanheilung und die Versuche Murrays über die Beziehungen

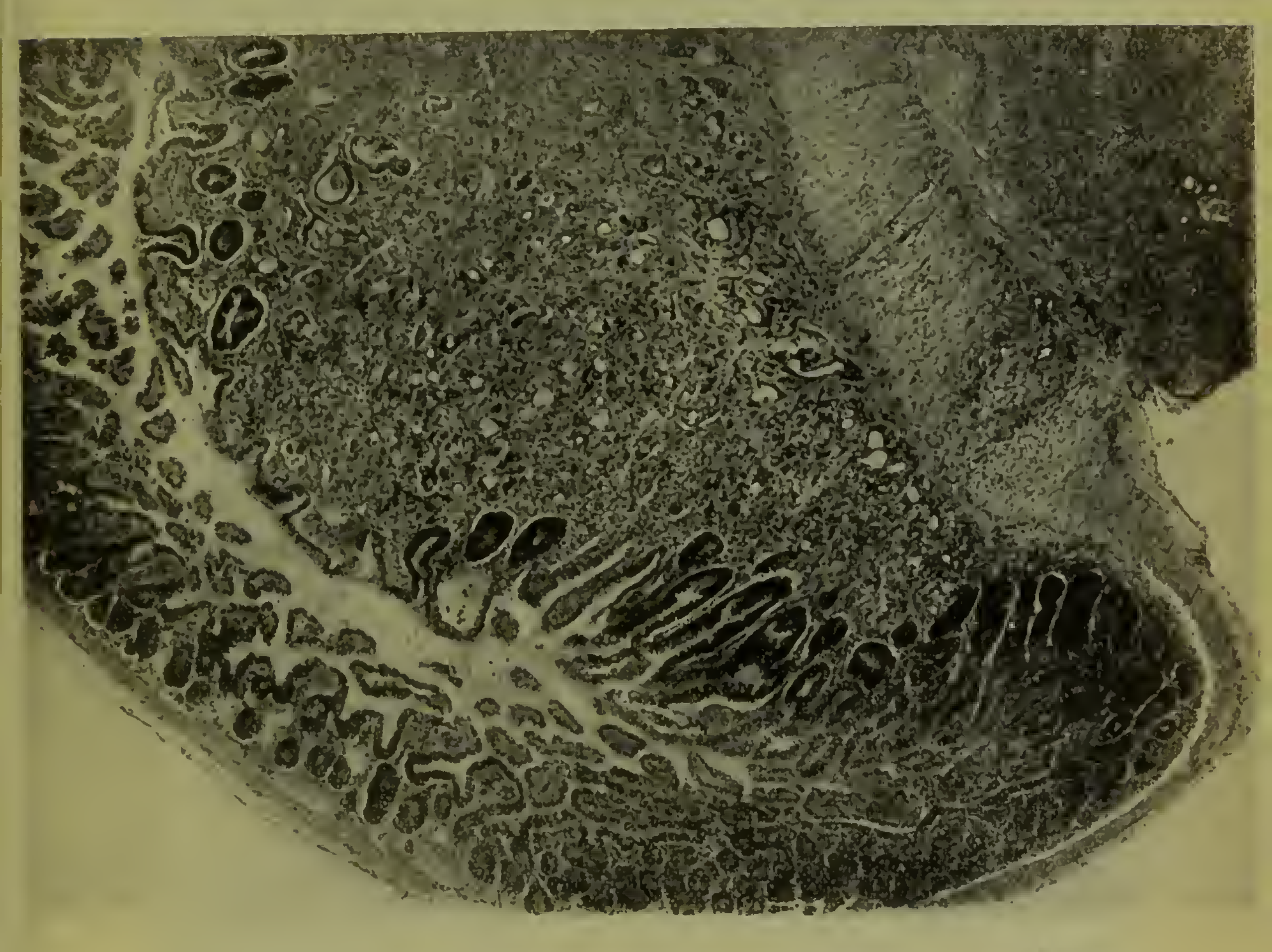


Fig. 3. Randpartie eines spontanen Adenocarcinoms des Mäusedünndarms, von der Mucosa ausgehend, von innen nach außen durch die Muscularis brechend. Mit Fig. 2 zu vergleichen, um die Aehnlichkeit der in transplantierten Tumoren erhaltenen Läsionen mit denjenigen der spontanen Geschwülste zu zeigen. Beide sind Mikrophotographien bei 50-facher Vergrößerung.

zwischen Tumor und spontan befallenem Tiere, Cramers, Copemans und Hakes über die Salzsäuresekretion des Magens, sowie auch Cramers über den Gaswechsel beweisen. Außerdem bietet uns die experimentelle Uebertragung den großen Vorzug, daß das gleiche Parenchym bei vielen Tieren studiert werden kann.

2. Vorteile der Transplantation bei Mäusen und Ratten.

Die unbegrenzte Menge der durch Ueberimpfung produzierten Zellmassen und die unbegrenzte Zeit, in welcher das Wachstum dieser Zellen durch künstliche Züchtung fortgesetzt werden konnte (sind doch die Zellen des Jensenschen Tumors nahe an 8 Jahre am Leben erhalten), stehen in schroffem Widerspruch zur spezifischen Begrenzung des Wachstums und der Lebensdauer aller Wirbeltiere. Man hat versucht, die Bedeutung dieser Tatsachen in bezug auf das Krebsproblem im Menschen dadurch zu verringern, daß man auf die Beschränkung der Geschwulsttransplantation auf Nagetiere großes Gewicht gelegt hat.

Aber dies Phänomen der Ueberimpfung ist nicht auf Nagetiere beschränkt. Es ist uns gelungen, durch drei Generationen hindurch ein Mammacarcinom eines Hundes fortzupflanzen, und wenn unsere Versuche mit Ratten und Mäusen ebenso gering an Zahlen wären, wie unsere immer fortgesetzten Versuche mit Hunden, Katzen, Pferden und anderen Säugetieren noch heutzutage sind, erzielten wir auch keine besseren Resultate.

Mäuse sind erfolgreich mit ihren eigenen sporadischen Tumoren [1]) geimpft worden, und dieser Tatsache entspricht die zufällige Ueberimpfung von Krebszellen bei chirurgischen Operationen beim Menschen und Mäusen. Die Gefahr, auf diese Art Krebs in bisher gesundes Gewebe einzuimpfen und fortzupflanzen, ist beim Menschen so groß, daß viele Chirurgen sich veranlaßt gesehen haben, ganz besondere Vorsichtsmaßregeln zu empfehlen, um dies zu vermeiden. Derselben Gefahr muß auch der Tierarzt bei Tieroperationen vorbeugen.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen wird die Annahme, daß die künstliche Ueberimpfung des Krebses nur auf die Nagetiere möglich ist, als ganz unhaltbar erscheinen. Es gibt genug Gründe für die gegenteilige Annahme, daß nämlich die künstliche Fortpflanzung von Krebs wahrscheinlich bei allen Säugetieren möglich sein würde, wenn größere Versuchsreihen

1) Bashford, Murray and Cramer, The natural and induced resistance of mice to the growth of Cancer. Roy. Soc. Proc. B., Vol. 79, Dec. 10, 1906.

angelegt werden könnten und eine passende Technik gefunden wäre; wie später erwähnt werden wird, ist die Technik der Ueberimpfung auch bei Mäusen von prinzipieller Bedeutung. Die Impfung einer Anzahl junger Hunde oder Pferde, nur um dieselben Resultate zu wiederholen, die schon bei Mäusen erhalten worden sind, wäre ein außerordentlich schweres und ganz ungerechtfertigtes Unternehmen nicht nur von finanziellen Gesichtspunkten aus betrachtet, sondern auch durch die Unmöglichkeit, z. B. 1000 Pferde zu überwachen. Wenn unser Wissen und unsere Methoden so weit fortgeschritten sind, daß die Erfolgsbedingungen klargelegt sind, wird es Zeit sein, zum Studium der letzten definitiven Probleme zu größeren Tieren unsere Zuflucht zu nehmen. Daß Fortschritte in dieser Richtung möglich sind, zeigt die Tatsache, daß wir jetzt im stande sind, 80 Proz. aller spontanen Mäusetumoren erfolgreich zu verpflanzen. Deswegen braucht denen kein Gehör geschenkt zu werden, die die gegenwärtige Begrenzung der in großem Maßstabe ausgeführten Versuche auf kleine Säugetiere — Mäuse und Ratten — kritisieren, Tiere, die leicht in großen Mengen untergebracht und gepflegt werden können. Diese Einwände haben ebensoviel Wert, als wenn im Falle, daß wir Impfung z. B. bei Pferden studiert hätten, uns nun vorgeworfen würde, warum wir es nicht mit Walfischen versucht hätten.

3. Wichtigkeit der Impfmethoden.

Bevor wir zu einer Analyse der Resultate experimenteller Fortpflanzung schreiten, kann die Bedeutung geringer Variationen in den experimentellen Methoden nicht genug hervorgehoben werden.

Das Alter, Gewicht und Rasse der Versuchstiere, die Menge des Impfmaterials, die Impfstelle und selbst die Handhabung der Technik, sind alles Faktoren, die das Endresultat erheblich verändern können. Wir haben des öfteren schon in früheren Beiträgen die Aufmerksamkeit auf diese Punkte gelenkt, und ausgiebigere Erfahrung lehrt uns immer mehr, sie zu schätzen und zu berücksichtigen. Damit andere Forscher imstande seien, unsere Beobachtungen zu wiederholen, auch um die Adoption gleicher Methoden in verschiedenen Labo-

ratorien zu fördern, möge hier eine ausführliche Beschreibung unserer Technik folgen.

Selbstverständlich war es am Anfang der Entwicklung des experimentellen Krebsstudiums unvermeidlich, daß technische Details in verschiedenen Laboratorien etwas variierten. Eine Uebersicht der Arbeitsmethoden verschiedenener Forscher auf diesem Forschungsfeld wird uns die verschiedenen Prozeduren zeigen, denen das Material während der Ueberimpfung unterworfen wurde.

Hanau führte Bruchteile seines Plattenepithelcarcinoms der Ratte in das Scrotum erwachsener Tiere durch einen Hauteinschnitt ein. Morau überimpfte auf dieselbe Weise unter die Haut, brauchte aber auch Spritzeninjektionen einer Emulsion in normaler Kochsalzlösung. Jensen benutzte auch hauptsächlich eine Emulsion seines Tumors in Kochsalzlösung, eine Methode, die auch Clowes und Gaylord anwandten, die noch dazu das Bindegewebe zu entfernen versuchten. Bei einer kleineren Reihe von Versuchen inokulierte Jensen kleine intakte Bruchstücke unter die Haut. Die Hauptmethode, die anfänglich im hiesigen Institut zur Verwendung kam, war, kleine Bruchstücke mittels einer speziell dafür angefertigten Nadel mit dazu passendem Stilett einzuführen. Borrel brachte zuerst größere Tumorstücke unter die Haut durch einen Hauteinschnitt (auch von Hertwig und Poll ausgeführt), er gebraucht aber jetzt kleinere Bruchstücke und Hohlnadel, ebenso auch dünnflüssige Emulsion in Kochsalzlösung für besondere Zwecke. Ehrlich bereitet eine Emulsion ohne Zusatz vor, welche durch Hauteinschnitt mit Pasteurs Pipetten in beträchtlichen Mengen eingeführt wird. Die genauen Dosen werden nicht angegeben.

Die Methode, die am wenigsten den Tumorzellen schadet, ist die, bei der kleine Bruchstücke des Tumors so intakt wie möglich mittels der Hohlnadel eingeführt werden. Dies erklärt auch die bedeutend besseren Resultate bei von uns schon früher beschriebenen Transplantationen spontaner Tumoren. Mit dieser Methode kann man sehr genau arbeiten, wenn eine große Anzahl Tiere gebraucht wird, aber dies ist oft ein Nachteil, ebenso wie die enge Grenze, in welcher die Dosen gehalten werden müssen. Wenn man über die großen Schwierigkeiten, die Resultate verschiedener Forscher in Uebereinstimmung zu bringen, und die Unmöglichkeit, ihre Versuche genau zu wiederholen, nachdenkt, so drängt sich einem die Notwendigkeit einer Methode auf, die genaue Dosierung, ohne ernstliche Beschädigung der Zellen, gestattet.

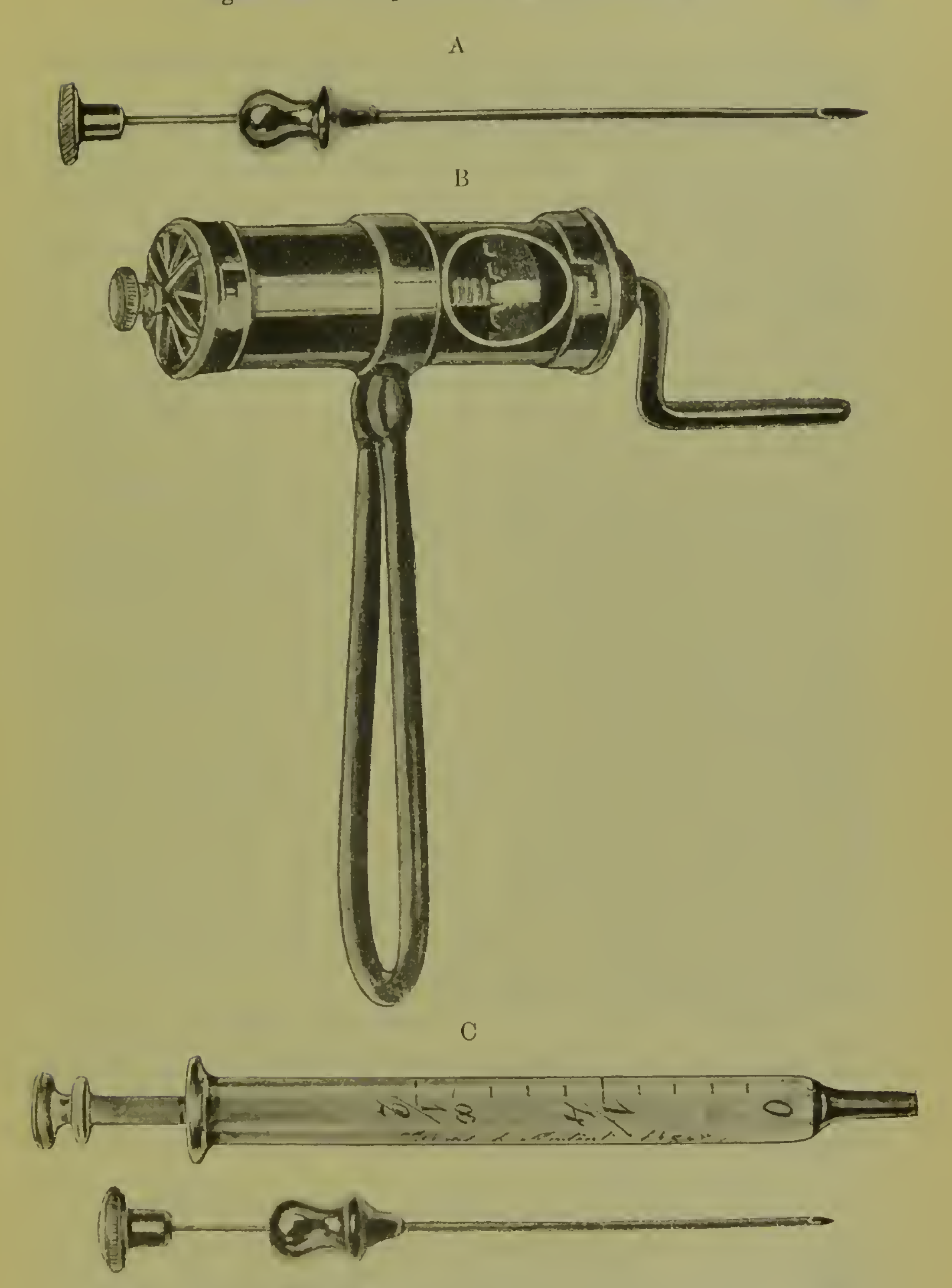


Fig. 4 A—C. A Hohlnadel mit Mandrin des Imperial Cancer Research Fund für routinemäßige Transplantation. (Von Down Brothers, London bezogen.) B Kleine Fleischhackmaschine, um eine gleichmäßige Emulsion von fester Konsistenz zu bereiten. (Von Jean Mette, Kristiania, bezogen.) C Kalibrierte Glasspritze und dazu gehörende Nadel. Die Spritze von 0,5 ccm Inhalt ist für 0,05 ccm kalibriert. (Von Luer in Paris bezogen.) Sämtlich in natürlicher Größe.

Die folgende Methode wird jetzt in unserem Laboratorium angewandt und gibt befriedigende Resultate.

Nachdem der Tumor aseptisch herausgenommen worden ist, wird er zu einer gleichmäßigen Emulsion verarbeitet. Für sehr feste Tumoren wird dies leicht mit einer kleinen Fleischhackmaschine (Fig. 4 B), die Haaland[1]) entworfen hat, bewerkstelligt. Für weiche Tumoren ist Zerschneiden mit einer scharfen Schere zulänglich. Anstatt der Pasteur-Pipette, die eine genaue Dosierung nicht zuläßt, wenden wir eine genau kalibrierte Spritze (Fig. 4 C) an. Die Emulsion wird in einer ganz gläsernen Spritze, die 0,5 ccm hält und eine weite Oeffnung hat, aufgesogen. Die Spritze ist auf 0,05 ccm kalibriert, und die Hälfte dieser Quantität läßt sich genau ausmessen. Die Maximalmenge, die leicht zu geben ist, ist 0,5 ccm, aber in der Praxis ist es nicht ratsam, 0,2 ccm zu übersteigen. Nachdem der Tumorbrei aufgesaugt ist, wird eine hypodermische Nadel, so wie sie in einer Serumspritze gebraucht wird, oder von etwas weiterem Kaliber, der Spritzenspitze aufgesteckt, und die Injektionen werden in die Axilla oder an der Seite entlang gemacht, indem man die in der Leistengegend eingeführte Nadel bis an die Axilla vorstößt und die Emulsion während des Herausziehens langsam ausspritzt. Zwischen jeder Injektion wird die Nadel sorgfältig auf steriler Baumwolle, die mit absolutem Alkohol durchtränkt ist, abgewischt. Die Injektionsstelle wird mit Vorteil im voraus mit Alkohol befeuchtet, aber von besonderen Fällen abgesehen, ist es nicht nötig, die Haare der Injektionsstelle zu entfernen.

Mit dieser und mit der Hohlnadelmethode sind viele Zehntausende von Versuchen mit verschiedenen Tumoren ausgeführt worden; die Dosen schwankten zwischen 0,025 ccm und 0,25 ccm Emulsion mit der Spritze und zwischen 0,03 und 0,005 g mit der Nadel.

Eine Betrachtung der Resultate solcher Experimente mit Tumoren von verschiedenen Graden von Transplantationsfähigkeit zeigt, daß die Konstanten, die auf diese Weise festgestellt worden sind, von einem zum anderen Tumor variieren und daß sie von der größten Bedeutung für die Beurteilung des biologischen Verhaltens jedes Stammes sind.

---

1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 23.

Während sozusagen alle spontanen Tumoren[1]) der Mamma bei der Maus zum Weiterwachsen gebracht werden können, wenn nur eine große Anzahl junger Tiere mit kleinen intakten Bruchteilen inokuliert wird, ist die Zahl, die bei der Impfung von 0,05—0,1 ccm Tumoremulsion ein günstiges Resultat ergibt, viel begrenzter. Darum haben auch die Forscher, die sich für das Ueberimpfen spontaner Tumoren ausschließlich auf die letztere Methode verlassen haben, unabsichtlich eine viel einseitigere Auswahl von Material vorgenommen, als es mit den kleineren Dosen die die Verimpfung der Mehrzahl aller spontanen Geschwülste gestatten, der Fall ist.

4. Zunehmende Anpassungsfähigkeit und biologische Veränderungen der Tumorzellen während fortgesetzter Ueberimpfung.

Mit dem ersten Transplantieren einer bösartigen Geschwulst von dem spontan befallenen Tier auf die erste Serie normaler Tiere (primäre Ueberimpfung, erste Generation) sind in den meisten Fällen große technische Schwierigkeiten verbunden. Um von denselben ein Bild zu geben, sei nur erwähnt, daß von 5791 Impfungen, an normalen Mäusen durch die Nadelimpfmethode mit 84 Spontantumoren vorgenommen, nur 518 Tumoren erhalten wurden, d. h. ein Erfolg von 11 Proz. In individuellen Versuchen schwankte der Erfolg zwischen 0 bis 30 Proz. der gebrauchten Mäuse, und auch die Tumoren, die in den Serien mit dem höchsten Prozentsatz entstanden, wuchsen sehr langsam und waren erst 14 Tage nach der Impfung als kleinste Knötchen fühlbar. Ueber 200 Impfungen eines Plattenepithelcarcinoms waren nötig, um die einzelne Tochtergeschwulst zu erhalten, von der die Fortpflanzung weiter ausgeführt wurde. Kurz, die Schwierigkeit, durch eine erste Ueberimpfung Krebs in Mäuse einzupflanzen, ist gewöhnlich eine erhebliche.

In einem unserer ersten Aufsätze[2]) haben wir die Schlüsse gezogen, daß die Tatsachen der künstlichen Ueberimpfung beweisen, daß die Genese eines Tumors scharf zu unterscheiden ist von den Bedingungen seines Weiterwachsens, und weiter,

1) Bashford, Revue Scientifique, June 1906, No. 22, 23; Brit. med. Journ., Dec. 1 1906.

2) Bashford and Murray, Proc. Roy. Soc. London, Vol. 73, 1904; First Scientific Report, 1904. u. s. w.

daß das Resultat der Ueberimpfung wesentlich durch zwei Faktoren bestimmt ist: 1) die Qualität der eingeimpften Tumorzellen und 2) die Resistenz der geimpften Mäuse. Diese Schlußfolgerung ist auch aufs schärfste später von Ehrlich betont worden und darf wohl als allgemein anerkannt gelten. Wir haben auch betont, daß die verschiedenen näher verwandten Tumoren eines einzigen Organs resp. der Mamma untereinander große Variationen bei der Ueberimpfung zeigen, und daß diese Verschiedenheiten, die bei der Uebertragung auf gleichartige Normalmäuse hervortreten, qualitativen, primären Verschiedenheiten der Parenchymzellen zuzuschreiben sind.

Außer diesen Umständen, die am meisten die Resultate der primären Ueberimpfungen beeinflussen, sind unserer Erfahrung nach das Alter des Tieres (junge, 6 Wochen alte Mäuse sind am vorteilhaftesten), die Dosis und die Impfmethode die nächstwichtigsten. Sehr bemerkenswert ist, wie schon erwähnt, daß die Dosis bei der primären Ueberimpfung spontaner Tumoren eine größere Rolle zu spielen scheint als bei Tumoren späterer Generationen. Diese Charakteristika der primären Impfung werden hauptsächlich dadurch hervorgerufen, daß die Tumorzellen sich schwer den veränderten Lebensbedingungen, die bei dem Ueberimpfungsakt von dem Tier, in welchem Zellen zuerst bösartige Eigenschaften annahmen, auf normale Tiere unumgänglich sind, anpassen. Die auffallendste Folge ist, daß die Zahl der überlebenden Zellen bei der ersten Transplantation eine sehr geringe ist.

Im Verlauf der fortgesetzten Transplantationen wird in vielen Stämmen ein auffallend besseres Angehen und rascheres Wachstum der Tumoren beobachtet. Ehrlich hat diese Erscheinung als Virulenzsteigerung bezeichnet und sie auf eine biologische Aenderung der Zellen zurückgeführt. Für die Mehrzahl unserer Tumoren kann dieses Phänomen durch eine vollkommenere Anpassung der Zellen an die in normalen Tieren vorhandenen Wachstumsbedingungen und die dadurch bedingte Erhöhung der wirksamen Dosis erklärt werden, wobei auch die Wirkung simultaner Immunisierung eine Rolle spielt, ohne daß das Postulat einer biologischen Aenderung der Zellen nötig wird.

Wie weit vermehrte Anpassungsfähigkeit das Aussehen der Versuche verändert, kann auf verschiedene Art illustriert

werden. Diese Anpassungsfähigkeit wurde zuerst demonstriert, als Bashford und Murray 1903—1904 die Schwierigkeiten der Ueberimpfung von Jensens Tumor auf fremde

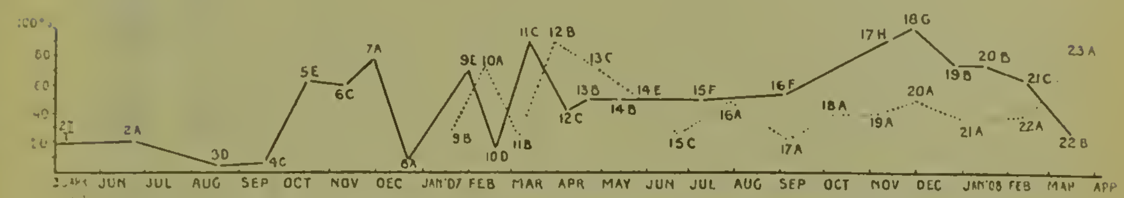


Fig. 5. Prozentkurve der Impfausbeute von einem Adenocarcinom der Mamma (Tumor 27). Naeh einem kurzen Zeitraum von niedriger Impfausbeute steigt die Kurve schnell bis zur 7. Generation und fällt dann wieder. Im weiteren Verlauf unregelmäßige Sehwankungen. Die Nummern geben die Impfgeneration (Zahl der Tierpassagen oder Transplantationen) an; die einzelnen Impfserien jeder Generation werden zeitlich der Reihe naeh durch Buehstaben untersehieden, z. B. die Folge 3 D—4 C bedeutet, daß die 3. (oder C-) Impfserie der 4. Generation (4 C) aus einem Tumor der 4. Serie der 3. Generation (3 D) enstanden ist. Für ausführliche Erklärung der Prozentkurven siehe Zeitsehr. f. Krebsforschung, Bd. 5, 1907, Heft 3.

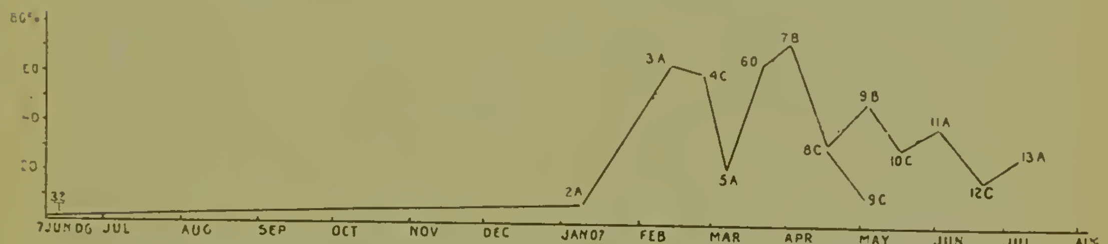


Fig. 6. Prozentkurve der Impfausbeute von Plattenepithelkrebs (Tumor 32). Schnelles Steigen bei der dritten Uebertragung, von einem Fallen und zweitem Steigen gefolgt.



Fig. 7. Prozentkurve der Impfausbeute von einem langsam waehsenden Adenocarcinoma papilliferum der Mamma (Tumor 72).

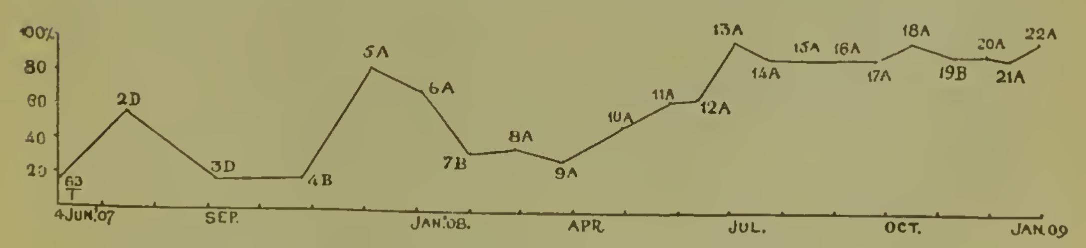


Fig. 8. Prozentkurve der Impfausbeute von einem hämorrhagischen Mammacarcinom (Tumor 63).

bis 50 negativ

10 cm.

Fig. 9.

Erklärung zu Fig. 9 u. 10 siehe p. 465.

10 cm.

Fig. 10.

Mäuserassen überwanden und die Impfausbeute von 5 auf 90 Proz. steigen sahen[1]). Eine graphische Darstellung der Impfresultate in Prozenten, wie dies in Fig. 5, 6, 7, 8 für vier Tumoren gegeben ist, zeigt dieses Phänomen ganz klar. Die Kurve steigt mit jeder Ueberimpfung manchmal rapid, manchmal langsamer, drei, vier oder mehr Generationen lang. In vereinzelten Fällen scheint jedoch die Ausbeute auf einem niedrigeren Niveau zu bleiben (Fig. 7). Dieselbe anfängliche Steigerung zeigen die Kurven, die die Sarkomentwickelung bei einem unserer Tumoren illustrieren, bei jedem experimentell hervorgerufenen Sarcomstamm.

Wenn die Wachstumsschnelligkeit der individuellen Tumoren graphisch dargestellt wird, treten die feineren Züge des Prozesses deutlicher hervor, ohne die Komplikation durch eine vorübergehende Phase herabgesetzter Wachstumsenergie sofort nach der primären Ueberimpfung, wie sie bei Stamm 27 in Fig. 5 gezeigt ist. Fig. 9 zeigt die Wachstumsschnelligkeit der aus der ersten Transplantation eines hämorrhagischen Tumors (Tumor 50) entstandenen Tumoren; Fig. 10 zeigt eine spätere Serie desselben Tumors in der 9. Generation (50/9 H). Die ursprüngliche Dosis Tumormaterials war ungefähr die gleiche bei beiden Serien (0,02 g, 0,025 ccm), und die graphischen Darstellungen zeigen die wichtige Tatsache, daß die Menge in gleichem Zeitraum produzierten Tumorgewebes bei der späteren Transplantation viel größer ist als bei der primären Ueberimpfung. Fig. 11, 12 und 13 zeigen dieselben Verschiedenheiten für die 2., 3. und 4. Generation eines Plattenepithelkrebses (Tumor 32). Die Primärtransplantation dieses Tumors ergab bei 156 Mäusen vier winzige Gewächse. Der einzige, fortdauernd wachsende Tumor erreichte in 4 Monaten die Größe einer Erbse. Die Tumoren der 2. Generation (2 A, Fig. 11) wuchsen viel

Fig. 9. Versuchsprotokoll von der ersten Uebertragung von einem hämorrhagischen Mammakrebs (Tumor 50). 81 Mäuse am 7. Febr. 1907 mit 0,02 g von Spontantumor 50 0 geimpft. Erste Chartierung 13 Tage später. Cf. Fig. 10.

Fig. 10. Versuchsprotokoll einer Serie von demselben hämorrhagischen Tumor (50) in der 9. Generation (Exp. 50/9 H.). 20 Mäuse am 17. April 1908 mit 0,025 ccm Emulsion von einem 36 Tage alten Tumor aus der 8. Generation geimpft. Die erste Chartierung 10 Tage später. Cf. Fig. 9.

1) Roy. Soc. Proc., Vol. 73, 1904; First Scientific Report, 1904, p. 14.

rascher, aber doch viel langsamer als die der 3. und 4. Generation (in Fig. 12 und 13 illustriert). Fig. 14, 15, 16 und 17 zeigen die Schwierigkeit, mit welcher Fortpflanzung vom Primärtumor 72 (siehe Fig. 7) erreicht wurde. Von 120 Mäusen ergab die Primärimpfung nur einen fortdauernd wachsenden Tumor. Bei der 2. Generation erhielten wir 33 Proz. von ziemlich schnell

Fig. 11. Protokoll der zweiten Uebertragung eines Plattenepithelkrebses (Exp. 32/2 A). 60 Mäuse am 8. Jan. 1907 mit 0,02 g von dem einzigen Tumor in der 1. Generation (7 Monate alt) geimpft. Sehr langsames Wachstum der erhaltenen Tochtertumoren.

1) tr = transplantiert. 2) op = operiert.

wachsenden Tumoren. Die 3. und ebenso die 4. Generation waren beide von sehr schlechtem Erfolg. Eine Verbesserung des Prozentsatzes und der Wachstumsschnelligkeit ist in diesem Tumor bis jetzt nicht erhalten. Es würde nur zu Wiederholungen führen, die graphischen Darstellungen der 43 transplantablen Tumoren, die zur Zeit fortdauernd in unseren Laboratorien wachsen, zu geben. Wir erwähnen nur, daß

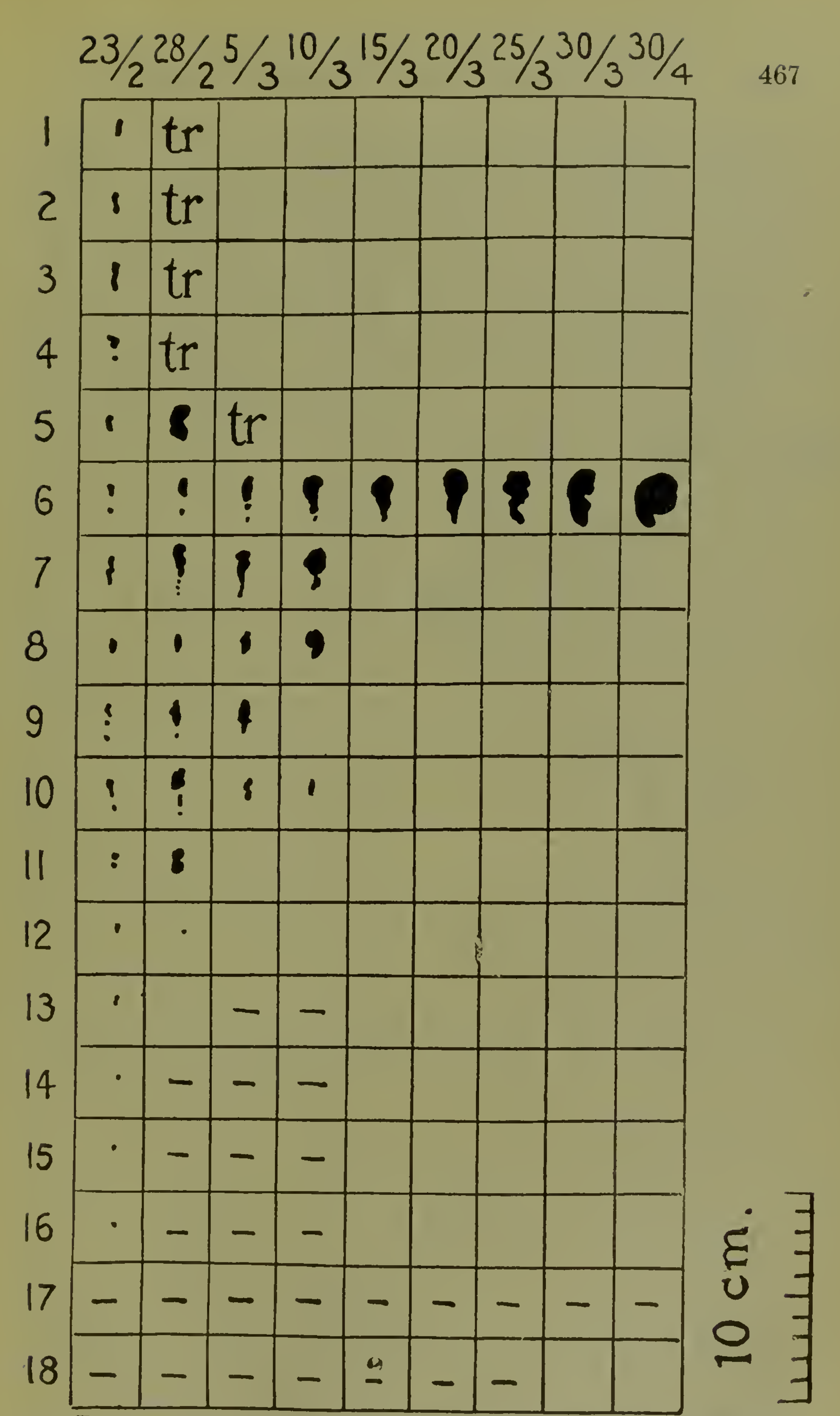
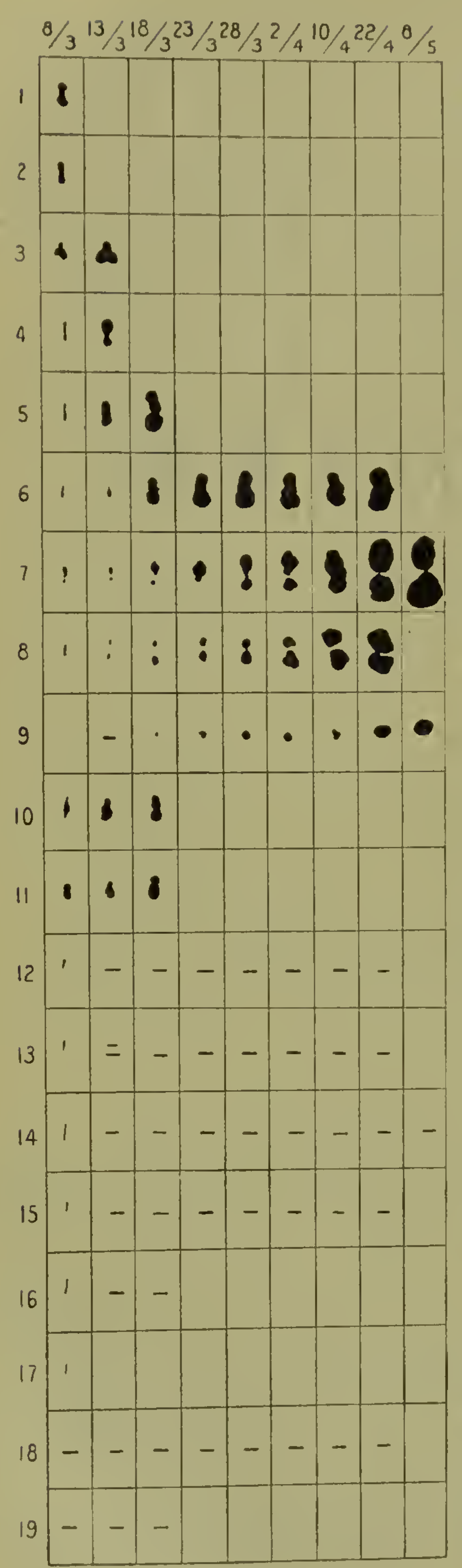


Fig. 12. Protokoll einer Serie der 3. Generation desselben Plattenepithelkrebses (Exp. 32/3 A). 18 Mäuse am 12. Febr. 1907 mit 0,03 g von einem 35 Tage alten Tumor der 2. Generation (Fig. 11, No. 1) geimpft.



wir darüber spezielle Untersuchungen angestellt haben, ob die am schwierigsten weiter zu verpflanzenden Tumoren begrenzte oder unbegrenzte Wachstumsfähigkeit besitzen. Der ebenerwähnte Tumor 72 (Fig. 14—17) stellt einen schwer zu verimpfenden Tumor dar und Tumor 47 sogar einen noch schwerer verimpfbaren, aber trotzdem war es möglich, sie fortdauernd zu transplantieren. Wenn einmal ein Tumor erfolgreich verpflanzt ist, und er dann zu wachsen aufhört, so ist dies nicht ein Zeichen einer natürlichen Erschöpfung der Wachstumsfähigkeit, sondern es zeigt nur ungenügende Sorgfalt des Forschers, oder es geht eben über die menschliche Arbeitskraft, die Aufmerksamkeit auf alle transplantablen Tumoren zu lenken. Mit geringen Abweichungen mögen die vorgeführten Protokolle auch das Verhalten der übrigen Tumoren illustrieren.

Die Schwankungen der Impfausbeute, die eine solche

Fig. 13. Protokoll einer Versuchsserie aus der 4. Generation desselben Tumors (Exp. 32/4 C). 19 Mäuse am 26. Febr. 1907 mit 0,025 ccm von zwei 13 Tage alten Tumoren der 3. Generation (No. 3 und 4 in Fig. 12) geimpft.

konstante Erscheinung unserer Prozentsatzkurven späterer Impfungen sind, werden gewöhnlich von parallelen Schwankungen der Wachstumsschnelligkeit der überimpften Tumoren begleitet, aber die Uebereinstimmung ist nicht absolut. Während einige langsam wachsende Tumoren gewöhnlich bei Serien

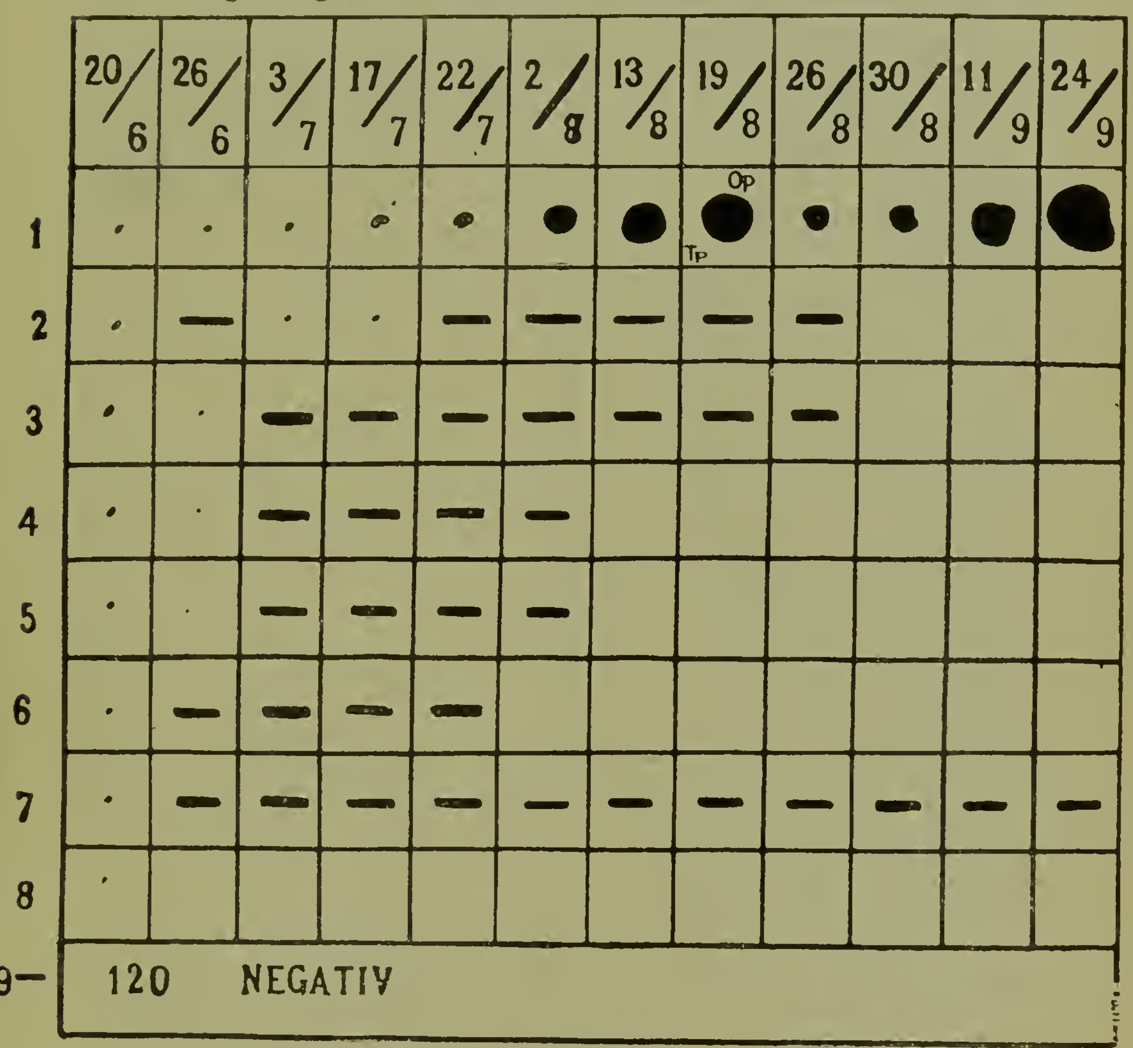


Fig. 14. Protokoll der primären Ueberimpfung von einem Adenocarcinom der Mamma (Tumor 72, Exp. 72/1). Nur ein Tumor ist erhalten worden in 120 Mäusen, die am 1. Juni 1907 mit 0,02 g von Spontantumor 72/0 geimpft wurden.

von hoher Impfausbeute gefunden werden, können auch rasch wachsende Tumoren, sogar häufig, in Serien von niedrigem Prozentsatz, vorkommen; aber im allgemeinen laufen die beiden Phänomene parallel. Gerechterweise können die Vergleiche nur zwischen Serien, die zu denselben Tumorenstämmen

gehören, gezogen werden; verschiedene Stämme zeigen als wichtiges biologisches Charakteristikum, allerlei Beziehungen zwischen Angangsfähigkeit und Wachstumsenergie der gegebenen Tumoren, so daß die Unabhängigkeit der beiden

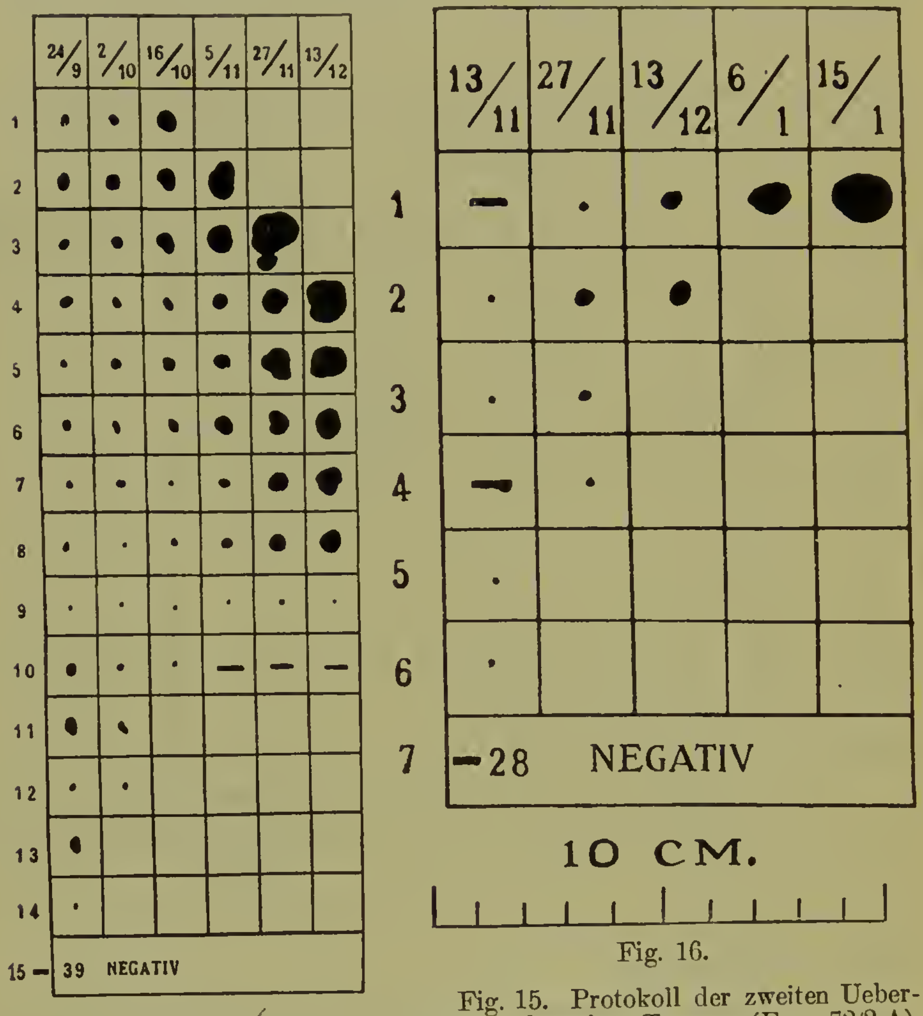


Fig. 15.

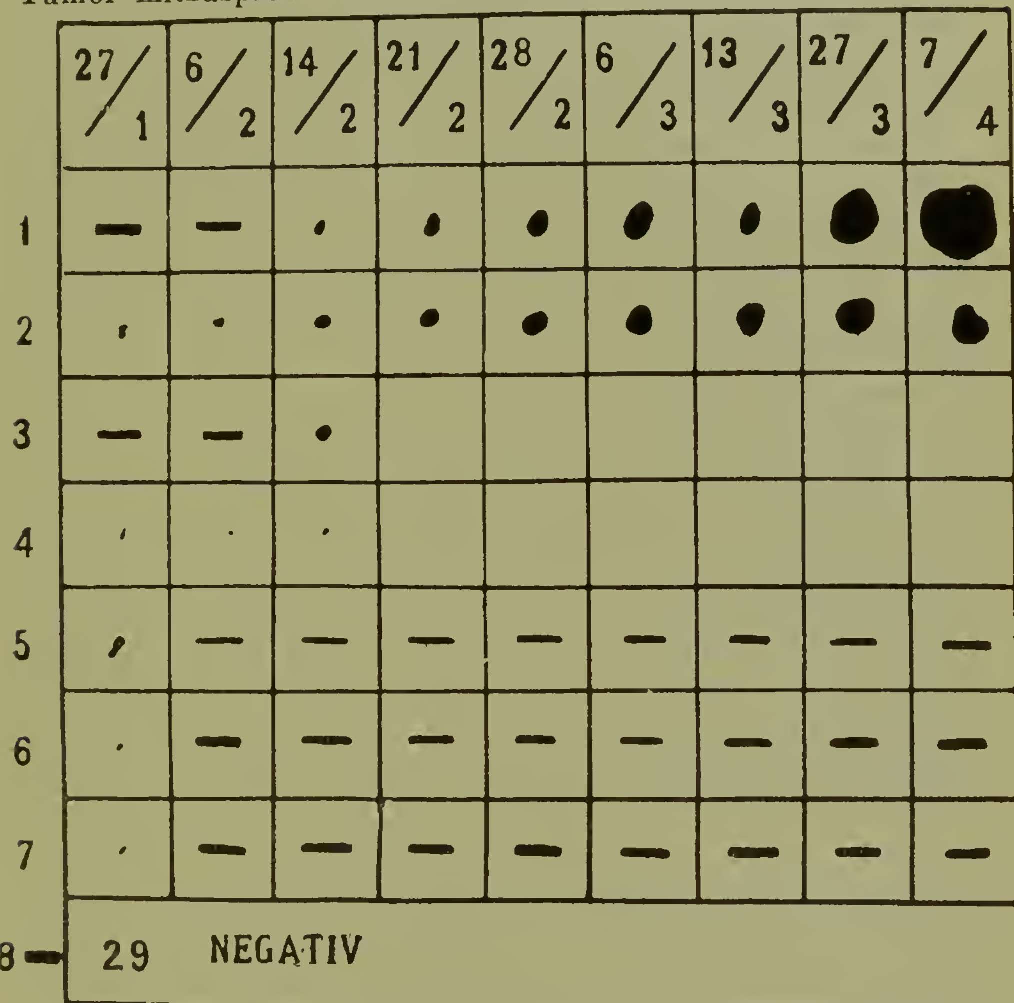
Fig. 15. Protokoll der zweiten Ueberimpfung desselben Tumors (Exp. 72/2 A). Wachstum der erhaltenen Tumoren nach Inokulation in 93 Mäuse von je 0,02 g von dem Tumor No. 1 in Fig. 14, 80 Tage alt.

Fig. 16. Protokoll einer Versuchsserie der 3. Generation desselben Tumors (Exp. 72/3 A). Wachstum der erhaltenen Tumoren nach Inokulation in 28 Mäuse von je 0,02 g eines 58 Tage alten Tumors der 2. Generation (No. 1 in Fig. 15).

Charaktere besonders deutlich ist, wenn wir von einem Stamm zum anderen übergehen.

Es ist möglich, daß sekundär auftretende biologische Veränderungen die erhöhte Anpassung begleiten. Da es natür-

liche Variationen der Wachstumsschnelligkeit gibt, könnte eine stärkere Wachstumsenergie vielleicht das Resultat lange fortgeführter Auswahl rasch wachsender Tumoren sein. Die Umgebung mag ebenfalls bei einem jahrelang fortgepflanzten Tumor mitzusprechen haben. Eines der ersten Resultate der



10 CM.

Fig. 17. Protokoll einer Versuchsserie der 4. Generation desselben Tumors (Exp. 72/4 A). Wachstum der erhaltenen Tumoren nach Inokulation in 29 Mäuse von je 0,02 g des Tumors No. 1 in Fig. 16.

experimentellen Krebsforschung bestand in den Beobachtungen von Bashford und Murray, sowie Michaelis, daß die Mäusetumoren eines Landes in den Mäusen eines anderen Landes schlecht oder gar nicht angingen, obwohl den ersten Beobachtern auch die Schnelligkeit auffiel, mit der die

Zellen der neuen Umgebung angepaßt werden konnten [1]). Dies Phänomen gleicht wahrscheinlich dem bei der Primärtransplantation sporadischer Tumoren bemerkten, wenn ein gewaltsamer Umgebungswechsel zur Zeit der Ueberimpfung von dem Ausgangstier stattfindet. Haaland hat über diese Wachstumsbedingungen verschiedener Tumoren in fremden Rassen eingehendere Studien gemacht [2]). Voriges Jahr wurde jedoch die Genauigkeit aller solcher Beobachtungen von Hertwig und Poll ohne genügende Begründung angezweifelt. Wir haben unsere Tumoren einer großen Anzahl ausländischer Forscher zugeschickt, und besonders Gierke hat eine Anzahl Fälle ausführlichst beobachtet, indem er unsere Tumoren in deutsche Mäuse, in London wie in Berlin mit dem Resultat verpflanzte, daß Hertwigs und Polls Einwendungen hinfällig geworden sind [3]).

Theoretisch betrachtet, könnte das fortgesetzte Wachstum der Zellen in dem Boden, der durch die Mäuse einer Rasse oder eines Landes geliefert wird, sie weniger wachstumsfähig in anderem Boden — Mäusen anderer Rassen und Länder — oder selbst in dem Boden, an den sie ursprünglich gewöhnt waren, machen. Darum haben wir unsere früheren Beobachtungen an Jensens Tumor mit frischem, aus Dänemark zusammen mit dänischen Mäusen geschicktem Material wiederholt. Obgleich die Versuche durch ihre geringe Zahl nicht für definitiv anzusehen sind, zeigen dieselben doch, daß Jensens Tumor nach 3-jährigem Wachstum in englischen Mäusen nicht seine Wachtumsenergie in dänischen Mäusen verloren hatte, und daß er in ihnen im ganzen sogar etwas besser wuchs als die dänischen Kontrolltumoren; jedoch gedieh der englische Tumor besser in englischen als in dänischen Mäusen.

1) Wie schon mitgeteilt, haben wir unsere Tumoren nach auswärts geschickt, und die Ueberimpfungen haben hohe Prozentsätze entsprechend denen bei den englischen Kontrollmäusen ergeben. Es spielen wieder hier zweierlei Faktoren mit, die Empfänglichkeit der Mäuserassen und die biologischen Eigenschaften der Tumorzellen, die nicht nur bei verschiedenen Tumoren verschieden sind, sondern auch bei ein und demselben Tumor zwischen positiven und negativen Wachstumsphasen wechseln, wie später beschrieben wird (vide Roy. Soc. Proc., B, Vol. 79, 1906, p. 176; Science Progress, July 1907) usw.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 23.

3) Verhandlungen d. Deutschen Pathol. Gesellsch. Kiel 1908.

Gewisse in einzelnen Tumorstämmen beobachtete Tatsachen sind ohne die Annahme einer biologischen Aenderung der Zellen während fortgesetzter Transplantation nicht zu erklären. Ein Beispiel dieser Art ist der Verlust des ursprünglichen hämorrhagischen Charakters einiger Mammacarcinome im Verlauf fortgesetzter Fortpflanzung, gleichzeitig mit Steigerung der Impfausbeute und Wachstumsgeschwindigkeit (cf. Fig. 8). Besonders die bei der Entwickelung eines Sarkoms beobachteten Vorgänge, die von einem von uns in Detail beschrieben sind[1], scheinen diesen Schluß zu rechtfertigen, ebenfalls die neulich im hiesigen Institut von Russell beobachtete Entstehung eines Sarkoms aus dem Bindegewebe eines hämorrhagischen Carcinoms. Ob diese biologische Aenderung nur als die Folge des Herauszüchtens von besonders wachstumsfähigen Zellvariationen anzusehen sei, oder ob die Transplantation allmählich progressive Veränderungen herbeiführen kann, möchten wir zurzeit dahingestellt sein lassen. Aus den oben erwähnten Untersuchungen ist es wahrscheinlich gemacht, daß das Ueberimpfen eine große Rolle spielen kann, um progressive Veränderungen, die zur Erwerbung von sarkomatösen Eigenschaften führen, auszulösen. Was während der künstlichen Verpflanzung vor sich geht, mag nur eine künstliche Reproduktion — allerdings vielleicht unter sehr intensiven Einflüssen — dessen sein, was in dem Tiere sich abspielt, in welchem Krebs sich natürlich entwickelt.

5. Die Wichtigkeit der Dose beim Bestimmen der Wachstumsgeschwindigkeit eines Tumors.

Die Größe, die die Geschwülste irgend eines Tumorstammes in einer bestimmten Zeit erreichen, wird teilweise von der Proportion der eingeführten Zellen, die sich den neuen Verhältnissen anpassen, bestimmt, d. h. durch die Größe der wirksamen Anfangsdosis oder Zahl der überlebenden Zellen. Daß dies der Fall ist, kann durch Versuche gezeigt werden, bei denen die Anfangsdosis des Tumormaterials variiert.

Das einfachste Phänomen tritt zutage in Versuchen mit

1) Haaland, Contributions to the Study of the Development of Sarcoma under experimental Conditions. Third scientific Report of the Imperial Cancer Research, 1908, p. 175—262.

Tumoren, die mit einer zu der Größe der eingeführten Dosis proportionalen Schnelligkeit wachsen.

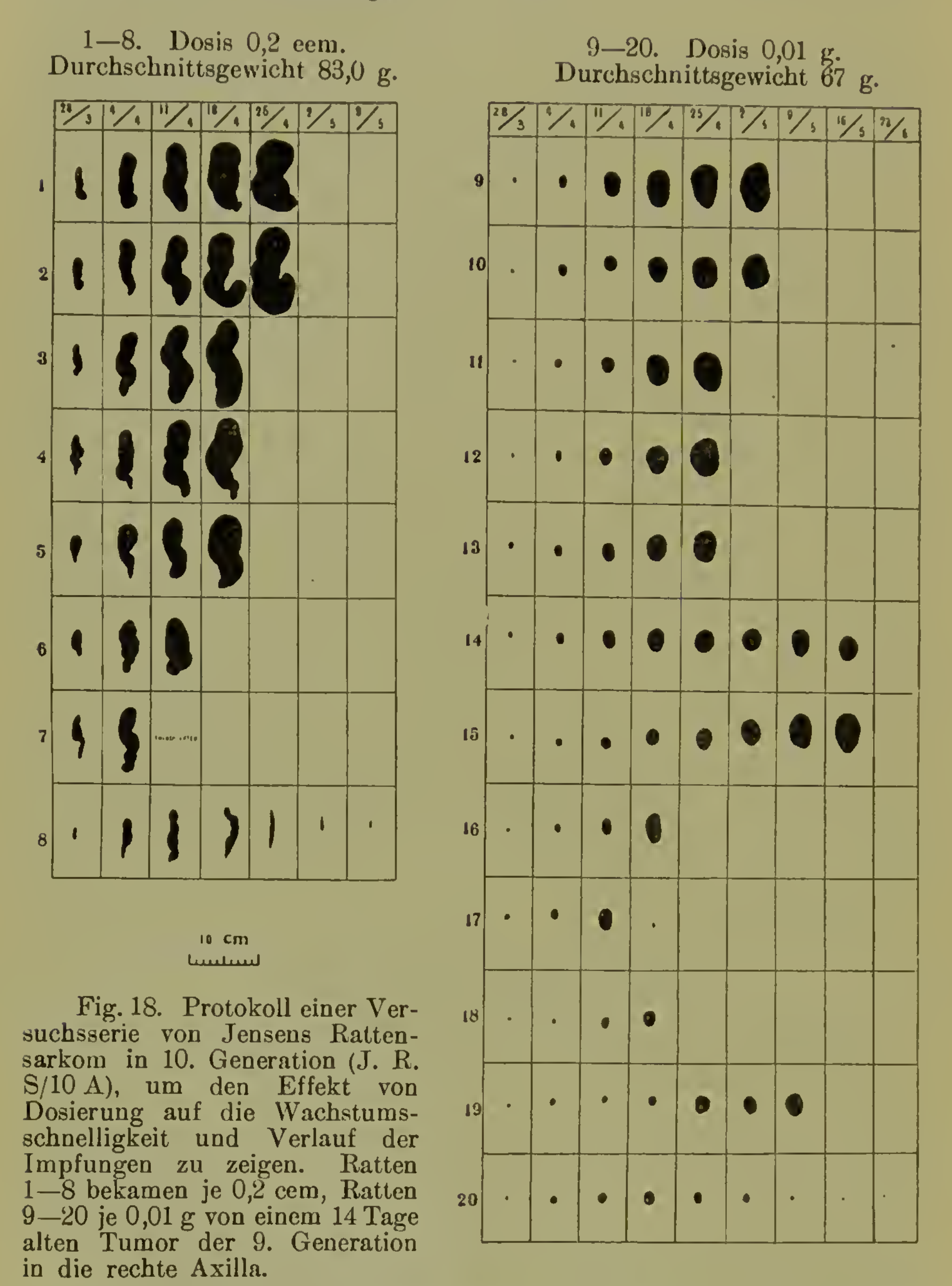


Fig. 18. Protokoll einer Versuchsserie von Jensens Rattensarkom in 10. Generation (J. R. S/10 A), um den Effekt von Dosierung auf die Wachstumsschnelligkeit und Verlauf der Impfungen zu zeigen. Ratten 1—8 bekamen je 0,2 ccm, Ratten 9—20 je 0,01 g von einem 14 Tage alten Tumor der 9. Generation in die rechte Axilla.

Die auf der nächsten Seite gegebene Tabelle zeigt die Unterschiede zwischen den nach großen und kleinen Dosen in derselben Zeit erhaltenen Tumormengen in demselben Tiere. Nach simultaner Impfung rechts und links mit kleinen resp. großen Dosen sind die Tiere zu verschiedenen Zeiten getötet und die Menge der beiderseits erhaltenen Tumoren durch Wägung exakt gemessen.

Gewicht der Ratte bei der Tötung	Tage nach der Impfung	Gewicht des Tumors in d. rechten Axilla, Dosis 0,025 ccm	Multiplum von Dosis erhalten	Gewicht des Tumors in der linken Axilla, Dosis 0,25 ccm	Multiplum von Dosis erhalten	Verhältnis der Gewichte der beiderseitigen Tumoren (das Verhältnis der Dosen = 1 : 10)
72 g	11	0,38 g	12,2-fach	2,2 g	8,8-fach	1 : 5,8
65 „	15	0,9 „	36 „	3,35 „	13,3 „	1 : 3,72
70 „	15	1,25 „	50 „	6,1 „	24,4 „	1 : 4,8

Exp. J.R.S/15 A. 3 Ratten am 30. Juni 1908 mit 0,025 cm Emulsion von Jensens Rattensarkom in die rechte Axilla und gleichzeitig mit 0,25 ccm in die linke Axilla geimpft. Die Gewichte der Tumoren sind 11 und 15 Tage nach der Impfung bestimmt worden.

Ein transplantables Spindelzellsarkom der Ratte, welches wir Prof. Jensen verdanken, zeigt dies in diagrammatischer Weise. In Fig. 18 wird ein Versuch gezeigt, bei welchem zwei Gruppen von Ratten mit verschiedenen Dosen desselben Materials geimpft wurden. Ratten 1—8 erhielten 0,2 ccm der Tumoremulsion in die rechte Axilla, während Ratten 9—20 nur $^1/_{20}$ dieser Menge erhielten (0,01 g). Die Größe der aus der größeren Dosis nach 10 Tagen entstandenen Tumoren und ihr weiteres Wachstum stehen in auffälligem Kontrast zu den aus den kleinen Dosen entstandenen Tumoren. Sie sind beinahe 20mal so groß, und die Tiere erliegen viel schneller. Wichtig ist, zu bemerken, daß die Impfausbeute in beiden Serien dieselbe ist (100 Proz.). Die obige Tabelle veranschaulicht die Gewichtszunahme von aus großen und kleinen Dosen entstandenen Tumoren nach 11 resp. 15 Tagen, als die Tiere getötet wurden.

Wenn Versuche mit anderen Tumoren, besonders mit transplantablen Mäusecarcinomata, mit denselben Dosen angestellt werden, wird jedoch dasselbe Resultat selten erzielt. Fig. 19 (Exp. 32/23 E) gibt einen ähnlichen Versuch mit einem transplantablen Plattenepithelcarcinom (Tumor 32) wieder. Die eine Hälfte der Mäuse (1—14) dieses Versuches wurden mit 0,025 ccm einer Tumoremulsion geimpft, die andere Hälfte (15—28) mit 0,15 ccm desselben Materials. Bei allen trat zuerst Wachstum ein, aber obgleich die Dosen sich wie 1 : 6 verhielten, sind die aus den größeren Dosen entstandenen Tumoren nicht entsprechend größer als die aus den kleineren Dosen hervorgegangenen. Wie in dem eben beschriebenen

Durchschnittsgewicht 14,3 g.

16/3 19/3 26/3 29/3

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

Durchschnittsgewicht 12,6 g.

16/3 19/3 26/3 29/3

15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

10 cm.

Fig. 19. Protokoll einer Versuchsserie mit Plattenepithelskrebs, um einen analogen Effekt von Unterschieden in der Dosierung zu zeigen, mit der Fig. 18 zu vergleichen. Sämtliche Mäuse am 6. März 1908 mit Plattenepithelkrebs in der rechten Axilla geimpft. Mäuse 1—14 Dosis 0,025 ccm; Mäuse 15—28 Dosis 0,15 ccm. Höhere Impfausbeute und schneller wachsende Tumoren nach den größeren Dosen als nach den kleineren (Exp. 32/23 E).

Rattenversuch wuchsen die aus großen Dosen entstandenen Tumoren schneller und wenige davon werden spontan resorbiert. Der Unterschied zwischen den zwei Hälften des Versuches 32/23 E (Fig. 19) wird durch die Verschiedenheit der Anfangsdosis der zwei Reihen verursacht. Die Verschiedenheiten der Wachstumsschnelligkeit zwischen den Tumoren der ersten Hälfte des Versuches 32/23 E (Fig. 19) und des Versuches 32/4 C (Fig. 13), ehe dieser Stamm gut zu wachsen anfing, kann durch den Einfluß desselben Faktors ausreichend erklärt werden. Obgleich die eingeführte Gewebsmenge bei beiden die gleiche war, ist die wirksame primäre Dosis, d. h. die Zahl der überlebenden Zellen größer bei einem als wie beim anderen, und es liegt kein Grund vor, eine andere Auslegung des Kontrastes zwischen Versuch 32/4 C (Fig. 13) und Versuch 32/2 A (Fig. 11) anzunehmen. Bei den Versuchen JRS/10 A (Fig. 18) und 32/23 E (Fig. 19) werden diese Verschiedenheiten mit Absicht hervorgebracht. Die Verringerung der wirksamen Dosis bei Versuch 32/2 A (Fig. 11) im Vergleich zu Versuch 32/4 C (Fig. 13) ist unbeabsichtigt, sie ist das Resultat der natürlichen Auslese der wachstumsfähigen Zellen, und der noch unvollkommenen Anpassungsfähigkeit der Tumorzellen den neuen Wirten gegenüber.

Aehnliche, mit verschiedenen Tumoren ausgeführte Versuche zeigen uns, daß der Unterschied zwischen den Ergebnissen der Impfungen mit großen und kleinen Dosen oft gerade umgekehrt ist. Fig. 20, Versuch 32/8 L, illustriert den Kontrast der Impfresultate bei zwei Reihen gleichartiger Mäuse, zwischen denen der einzige Unterschied darin besteht, daß, während die Mäuse der einen Gruppe je 0,1 ccm der Emulsion des Plattenepithelcarcinoms erhielten, diejenigen der anderen 0,05 ccm desselben Materials bekamen. Das Protokoll zeigt, daß in beiden Reihen 8 Tage nach der Impfung beträchtliches Wachstum stattgefunden hatte. Der weitere Verlauf der Tumoren der zwei Gruppen — alle 5 Tage nachgesehen — zeigt einen bemerkenswerten Widerspruch. Die Tumoren, die in den mit den kleineren Dosen geimpften Tieren sich entwickelten, wuchsen mit Ausnahme der kleinen Knötchen der Mäuse 17 und 18 rasch und fortdauernd. Dagegen war das Wachstum bei den Mäusen, die 0,1 ccm von Tumoremulsion erhielten, vorübergehend. 14 Tage später konnte bei den Ueberlebenden

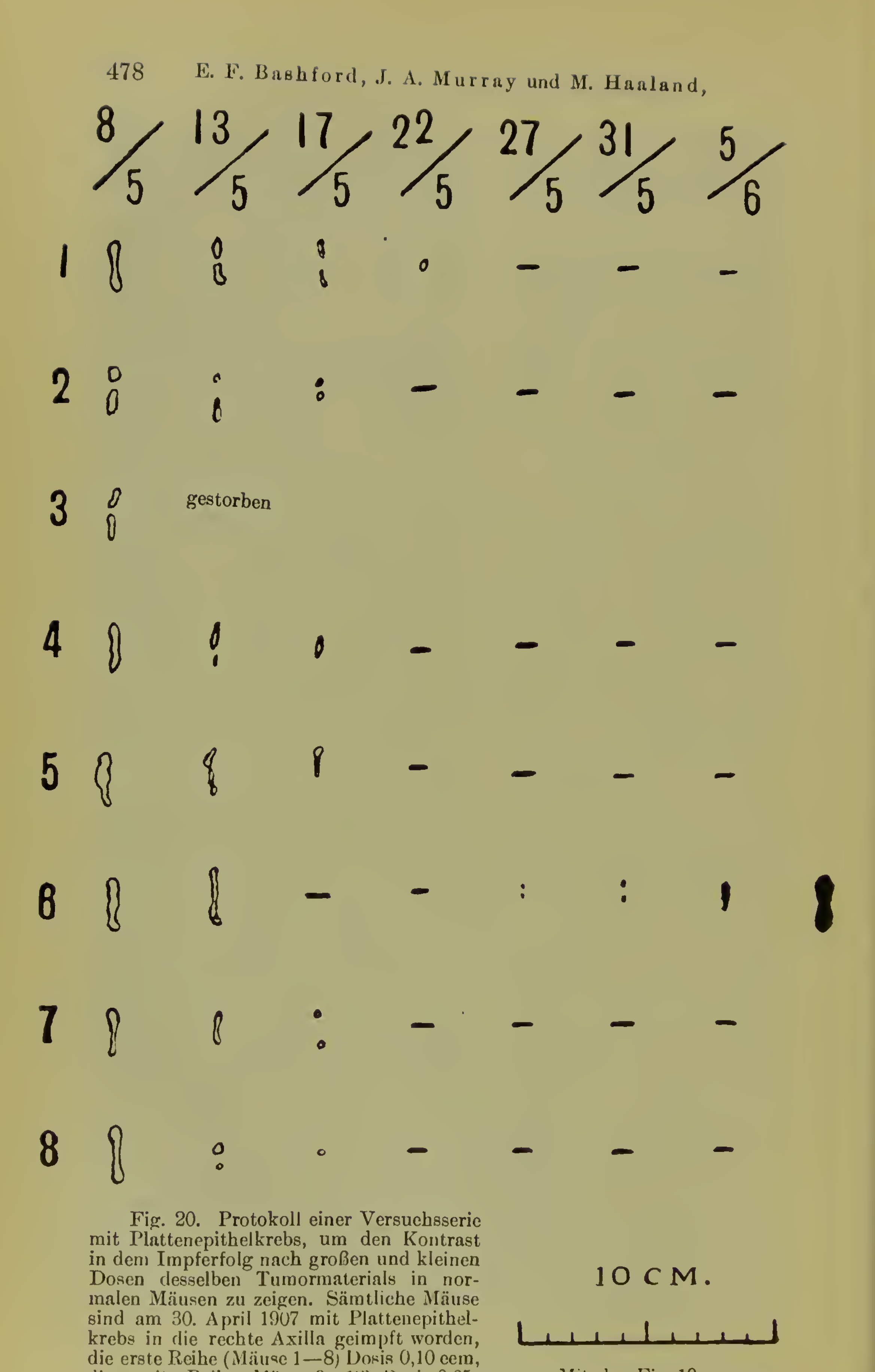
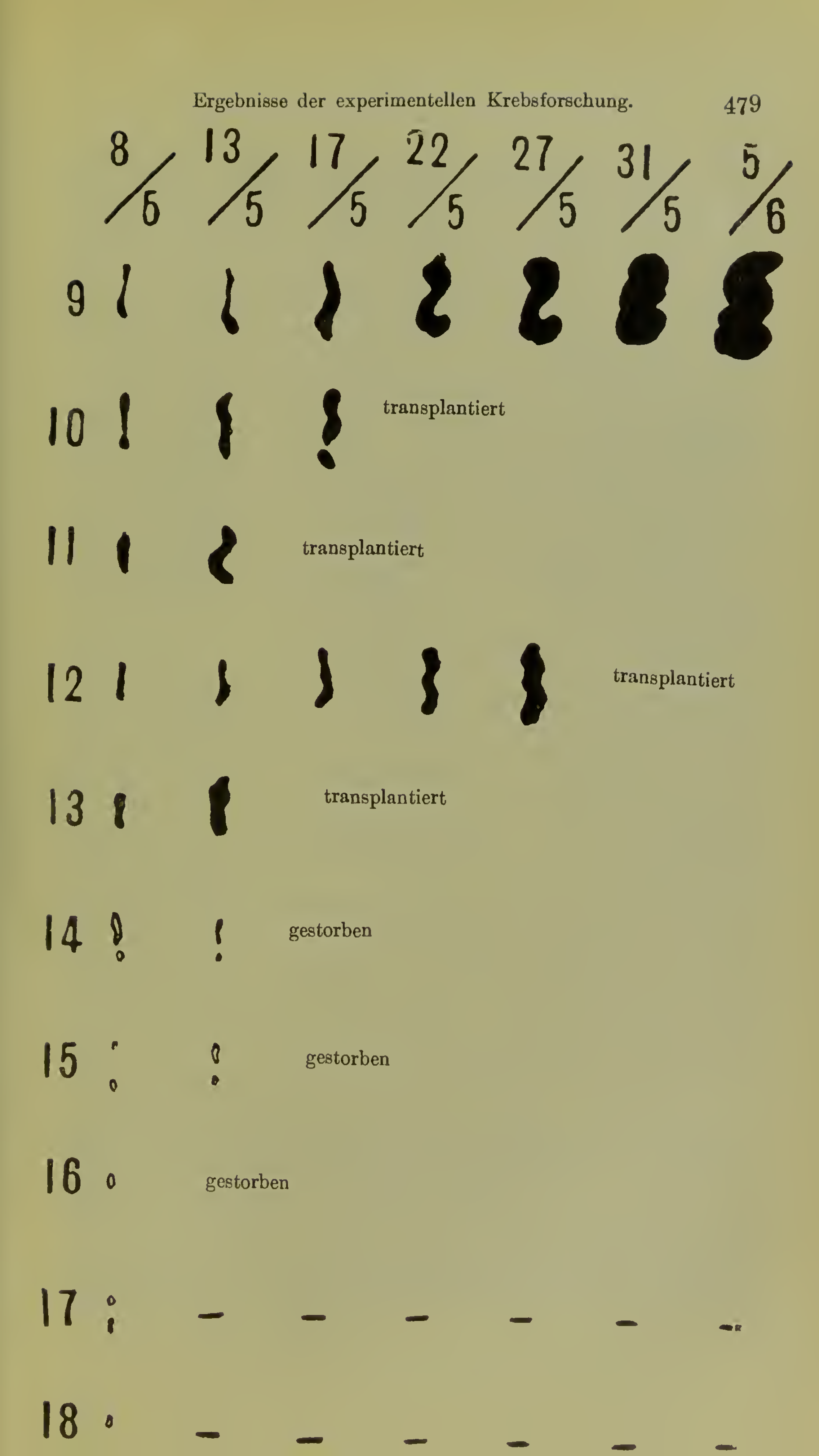


Fig. 20. Protokoll einer Versuchsserie mit Plattenepithelkrebs, um den Kontrast in dem Impferfolg nach großen und kleinen Dosen desselben Tumormaterials in normalen Mäusen zu zeigen. Sämtliche Mäuse sind am 30. April 1907 mit Plattenepithelkrebs in die rechte Axilla geimpft worden, die erste Reihe (Mäuse 1—8) Dosis 0,10 ccm, die zweite Reihe (Mäuse 9—18) Dosis 0,05 ccm. — Mit der Fig. 19 zu vergleichen, die einen ähnlichen Versuch mit demselben Tumor mit ganz verschiedenem Erfolg illustriert. (Exp. 32/8 L.)


8/5
13/5
17/5
22/5
27/5
31/5
5/6
9
10
transplantiert
11
transplantiert
12
transplantiert
13
transplantiert
14
gestorben
15
gestorben
16
gestorben
17
18

nicht die geringste Spur von Tumor gefühlt werden. Bei einer (No. 6) erschien nach weiterer Pause von 10 Tagen ein kleines Knötchen, welches progressiv wuchs; die anderen Mäuse blieben negativ. Dies ist das häufigste Ergebnis, wenn Mäuse mit großen und kleinen Dosen dieses Tumors geimpft werden. Kleine Dosen wachsen fortwährend und gut, während große Dosen, selbst wenn sie zuerst von einem erheblichen Wachstum gefolgt sind, entweder Tumoren ergeben, die zum Stillstand kommen oder spontan verschwinden. Man kann die natürliche Widerstandsfähigkeit der Mäuse nicht für diese Anomalie verantwortlich machen. Die direkt auf die Impfung folgenden Tage, während welcher die Revaskularisation des eingeimpften Bruchteils stattfindet, bilden die Periode im Verlauf eines transplantierten Carcinoms, zu der die Zellen für schädigende Einflüsse am empfindlichsten sind, und während dieser Zeit ist kein merkbarer Unterschied des Wachstums in beiden Reihen der Fig. 20 zu beobachten.

Fig. 21 und 22, (ähnliche Versuche mit Jensens Carcinom) zeigen denselben Kontrast zwischen den Ergebnissen zu verschiedener Zeit ausgeführter Impfungen mit großen und kleinen Dosen. Bei dem Versuch Fig. 21 wurden drei Gruppen gleichaltriger Mäuse mit verschiedenen Dosen desselben Materials geimpft. Mäuse No. 1—10 erhielten 0,025 ccm, 11—19 0,05 ccm und 20—31 0,1 ccm. Die in 10 Tagen erhaltenen Tumoren sind größer und wachsen schneller in den mit größeren Dosen geimpften Reihen (cf. Fig. 18 und 19). Versuch J/102 C (Fig. 22) ergibt ein anderes Resultat. Die Versuchsanordnung ist die gleiche, aber während Tumoren erschienen und wuchsen in den mit größten und kleinsten Dosen gemachten Reihen, wurde nur ein kleiner, langsam wachsender Tumor bei der Gruppe, die mit der mittleren Dosis (0,05 ccm, 11—20) geimpft war, erhalten. Diese Phänomene werden später noch besprochen werden. Sie deuten auf quantitative Beziehungen zwischen der Tumordosis und der Reaktion der Tiere hin und sind durch die Annahme einer simultanen Immunisierung am besten verständlich, die durch die mittleren Dosen deutlich zum Vorschein kommt, während sie bei den kleinen Dosen nicht genügend war und bei den größeren Tumorgaben wieder überwunden wird, wie Bashford,

Murray und Cramer schon früher[1]) und später auch Borrel und Bridré[2]) hervorgehoben haben.



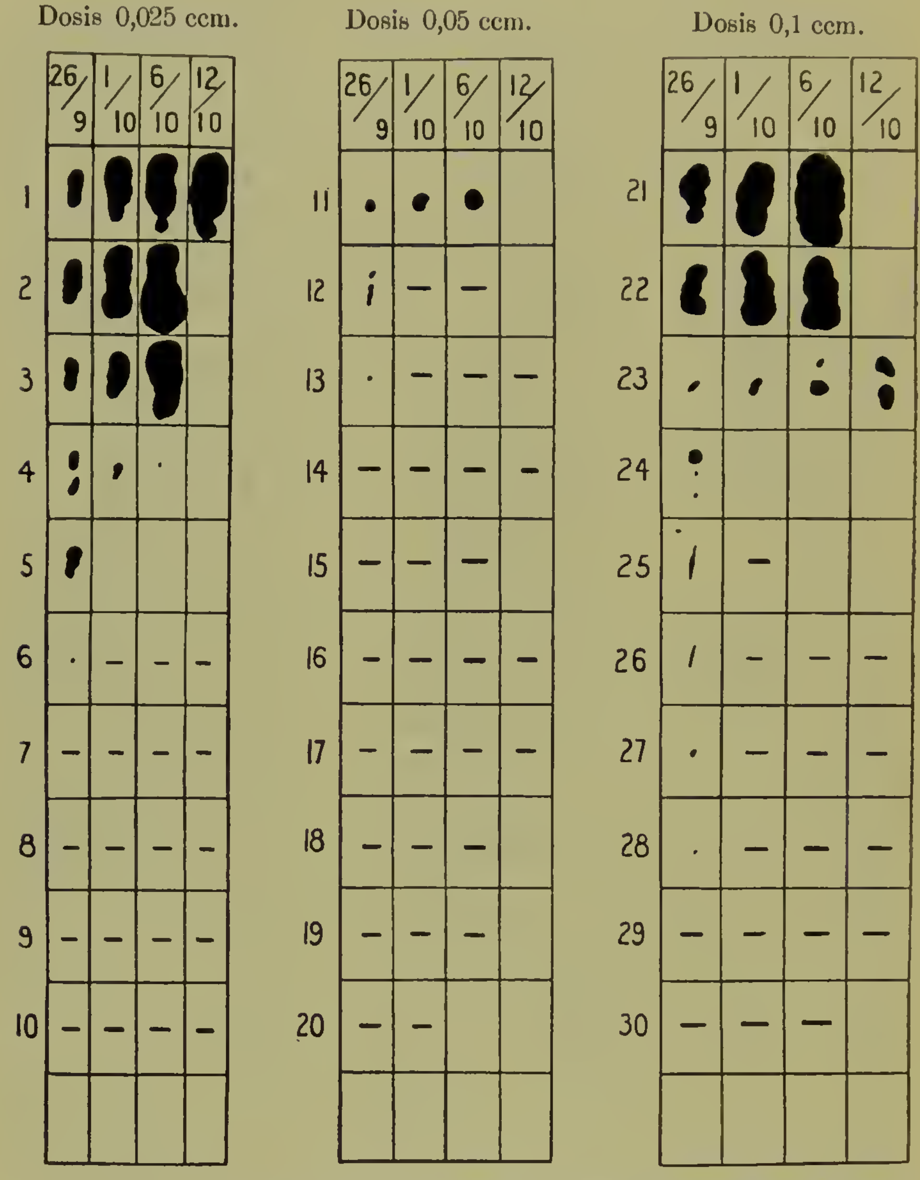
Fig. 21. Protokoll einer Versuchsserie des Jensenschen Tumors in der 99. Generation. Sämtliche Mäuse am 11. Sept. 1907 in die rechte Axilla geimpft. 1—10 Dosis 0,025 ccm, 11—21 Dosis 0,05 ccm, 22—31 Dosis 0,10 ccm Emulsion von Jensens Carcinom (Exp. J/99 C).

10 cm

1) The natural and induced Resistance of Mice to the Growth of Cancer. Rep. Soc. Proc., B., Vol. 79, p. 183, Dec. 10, 1906.

2) Recherches sur le cancer expérimental des Souris. Annal de l'Institut Pasteur, No. 10, Oct. 21, 1907.

Der Unterschied in dem Verhalten von dem Plattenepithelkrebs (Tumor No. 32) und Jensens Tumor zu ver-



10 cm.

Fig. 22. Protokoll einer Versuchsserie des Jensenschen Tumors in der 102. Generation. Sämtliche Mäuse am 16. Sept. 1907 in die rechte Axilla geimpft. 1—10 Dosis 0,025 ccm, 11—20 Dosis 0,05 ccm, 21—30 Dosis 0,10 ccm Emulsion von Jensens Carcinom (Exp. J/102 C).

schiedenen Zeiten in betreff der Wirkung der Verschiedenheiten in der Dosis eingeimpften Materials kann nur bedeuten, daß

die Zellen eines und desselben Tumorstammes zu verschiedenen Zeiten biologisch verschieden sind. Dies Phänomen wird ebenso bei den meisten anderen transplantablen Tumoren beobachtet. Einmal geben große Dosen einen höheren Prozentsatz von rascher wachsenden Tumoren als kleine, ein anderes Mal ist das vorübergehende Wachstum aus großen Dosen von spontaner Resorption gefolgt. Wichtig zu beachten ist, daß unsere Sarkome, welche während der Verpflanzung von Tumor 37 sich entwickelten, die Erscheinung auch zeigten, so wie auch unser transplantables Osteochrondrosarkom zum Unterschied von Jensens Rattensarkom, welches unserer Erfahrung nach dies nicht tut, sondern ohne in dieser Weise zutage tretende Schwankungen weiterwächst.

6. Wirkung von simultaner Immunisierung der Wirtstiere und wechselnden Eigenschaften der Tumorzellen.

Die Wirkung der Resorption des Tumorgewebes gleichzeitig mit dem anfänglichen Wachstum nach Einimpfung tritt nicht weniger klar, jedoch in geringerem Maßstab und auf andere Art, beinahe in jedem Versuchsprotokoll hervor. Wir werden diese besondere Wirkung hier näher besprechen, wegen ihrer Wichtigkeit für die Deutung der graphischen Darstellungen der Wachstumsgeschwindigkeit und Angangsfähigkeit, um dieselben für eine experimentelle Analyse des Carcinomwachstums zu verwenden. Bei den meisten Impfserien, von welchen Illustrationen beigefügt worden sind, gibt es eine Anzahl Tiere, bei denen vorübergehende Proliferation [1]) durch schnelle Absorption der Tumorknötchen abgelöst wird. Dies Phänomen fällt bei allen verpflanzbaren Tumoren auf, die wir studiert haben, und kommt auch bei primären Transplantationen spontaner Tumoren vor. Es ist wahrscheinlich unrichtig, anzunehmen, daß dies nur durch natürliche Resistenz des Impftieres zu

1) Das vorübergehende Wachstum ist nicht zu verwechseln mit der Spontanheilung von gut angegangenen Tumoren, wie wir sie anderswo beschrieben haben. (Action of Radium on transplanted Mouse Tumours and its relation to spontaneous Arrest of their Growth, Second Report of the Imperial Cancer Research, 1905.) The experimental Analysis of the Growth of Cancer. Roy. Soc. Proc., B., Vol. 78, May 1906, u. Zeitschr. f. Krebsforschung, 1907.

erklären ist. Wenn die Tiere von vornherein resistent wären, müßten wir annehmen, daß die Proliferation von Anfang an verhindert werden würde, wie wir es bei künstlich immunisierten Tieren sehen, und es wird nicht verständlich, warum kleine Dosen eine bessere Impfausbeute geben können als größere Dosen desselben Tumors. Es kommt selten vor, daß von Anfang an die Proliferation verhindert wird. Die Widerstandsfähigkeit ist nicht präexistierend, aber tritt im Anschluß an die Impfung auf. Diese Veränderung wird wahrscheinlich durch die in den Tagen nach der Impfung vor sich gehende Absorption des Tumormaterials erzeugt[1]). Die Tumoren, die andauernd wachsen, zeigen häufig gleichzeitig mit dem Anfang des Verschwindens der nur vorübergehend wachsenden Tumoren derselben Versuche einen Stillstand des Wachstums oder selbst eine zeitweise Verringerung der Größe. Dies kann in übertriebener Art bei Maus 6, Versuch 32/8 L, Fig. 20, gesehen werden. Das Phänomen tritt gewöhnlich zwischen dem 10. und 24. Tag nach der Inokulation auf, ist sehr auffällig bei der zweiten Chartierung am 17. Tag, und wenn die Tumoren andauernd wachsen, ist es schon am 24. Tag — wenn die Tumoren zum dritten Mal chartiert werden — verschwunden. Wie ist es zu erklären, daß bei einigen Tieren der Einfluß der Gewebsabsorption zu totalem Verschwinden der Tumoren führt, während bei anderen nur eine vorübergehende Verringerung des Wachstums auftritt? Scheinbar verbinden sich dabei zwei Faktoren, auf der einen Seite die Intensität der Reaktion (die entweder Eigenheiten des Tieres oder einer größeren oder kleineren Gewebsabsorption zuzuschreiben ist) und auf der anderen Seite die wechselnden biologischen Eigenschaften der wachsenden Tumorzellen. Der zweite dieser beiden Faktoren, obwohl seine Natur noch nicht ganz klar hervortritt, ist wahrscheinlich von gleicher Bedeutung wie der erste. Tatsächlich sind die Tumorzellen, welche (wie oben erwähnt) zu verschiedenen Zeiten biologisch verschieden sind, zu gewissen Zeiten ungünstigen Bedingungen gegenüber mehr, zu anderen Zeiten wieder weniger empfindlich. Die merkwürdigen Unter-

---

1) Cf. Roy. Soc. Proc., B., Vol. 79, 1906, loc. cit.

schiede der Resultate, wenn man große und kleine Dosen desselben Tumorstammes zu verschiedenen Zeiten impft, zeigt diese Verschiedenheit der Phasen auf eine Art; die Schwankungen des Prozentsatzes der Impfausbeute zeigen es uns auf eine andere Weise, und diese zeitweisen Schwankungen des Wachstums von einzelnen Impftumoren, die sofort nach der Impfung folgen, auf eine dritte Weise. Das verschiedene Verhalten von aus größeren oder kleineren Dosen entstandenen Tumoren und die zeitweilige Verminderung der Größe oder das Verschwinden nach anfänglichem Wachstum dürfen wohl zu den Absorptionswirkungen von mehr oder weniger Tumormaterial gerechnet werden, die in einem Fall genügen, im anderen nicht, um eine spezifische Resistenzsteigerung des Tieres hervorzurufen. Die Art der Verschiedenheit zwischen Tumoren, die Transplantation mit großen Impfdosen vertragen, und denen, die dies nicht tun, ist bis jetzt gar nicht klar. Es ist nicht nur eine Verschiedenheit der Fähigkeit zu unabhängigem, individuellem Leben der Zellen; eine Annäherung der „cytotypischen“ Art des Wachsens — in R. Hertwigs Terminologie. Die Stärke der spezifischen Resistenz, die der Resorption derselben Mengen von verschiedenem Tumormaterial folgt, scheint von einem Stamm zum anderen zu wechseln, wie auch die Empfindlichkeit solcher Tumorzellen der veränderten Resistenz gegenüber, und es liegt auf der Hand, daß Verschiedenheiten dieser Art sich auch durch verschiedene Empfindlichkeit der Dosierung gegenüber manifestieren.

Dieser Vorgang, der als eine simultane aktive Immunisierung bezeichnet werden kann, darf vielleicht für den geringen Erfolgsprozentsatz bei primären Transplantationen sporadischer Tumoren auch teilweise verantwortlich gemacht werden. Die Proportion der Menge resorbierten Gewebes ist höher, das anfängliche Wachstum geringer, der mangelhaften Anpassungsfähigkeit entsprechend. Diese Wirkung von simultaner Immunisierung wird erhöht, wenn primäre Transplantation mit großen Dosen ausgeführt wird, und verringert, wenn ganz kleine Bruchteile eingeführt werden. Wenn Mäuse gegen den Impftumor natürlich resistent sind, wird die simultane Immunisierung diese Resistenz im hohen Grade steigern.

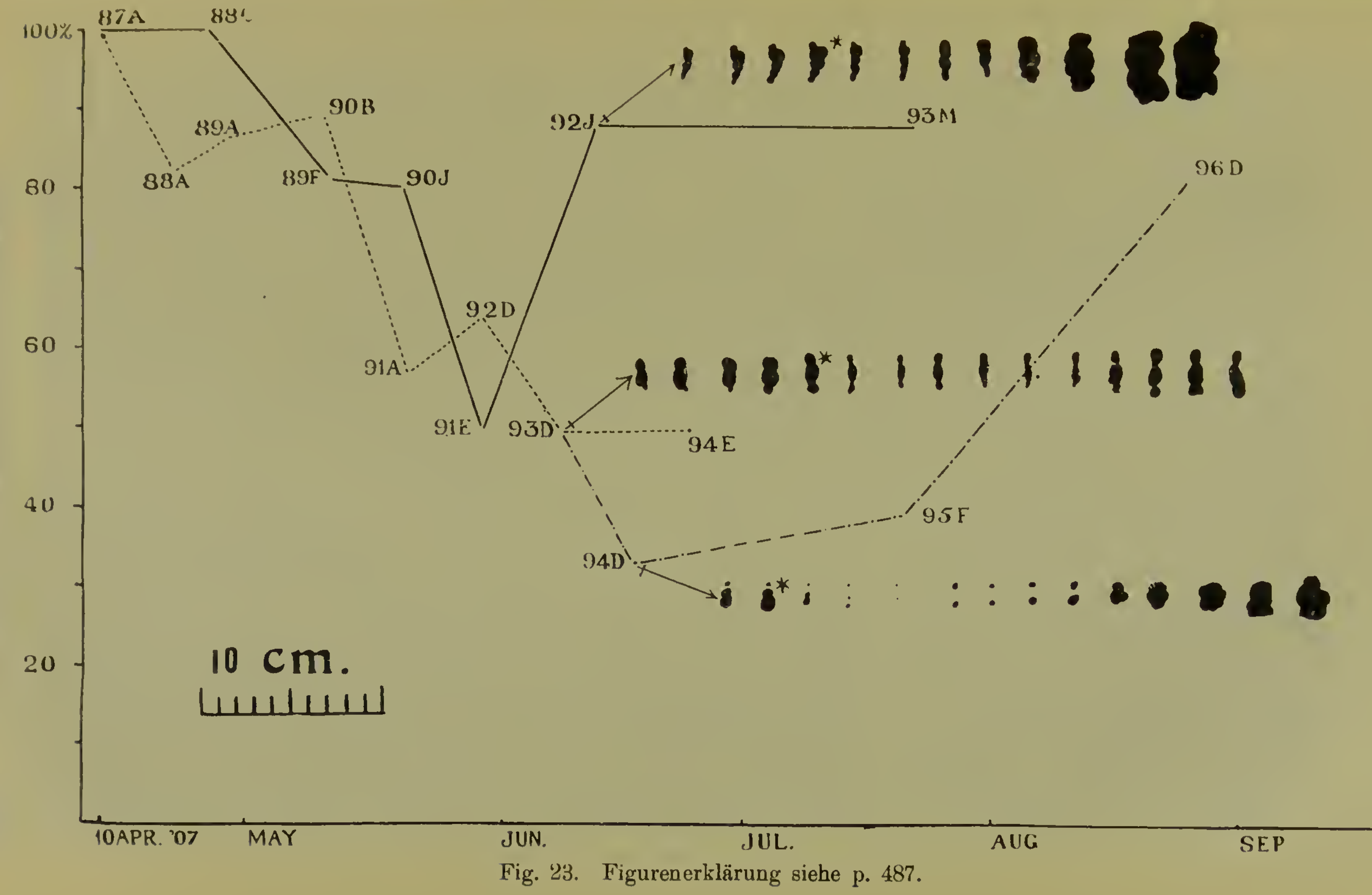


Fig. 23. Figurenerklärung siehe p. 487.

Vorübergehende Verringerung der Größe kommt auch bei großen Tumoren vor, aber lange nach der Periode, in welcher sich die Wirkungen der Tumorabsorption, wie oben beschrieben, manifestieren. Dies kommt viel seltener als das früher erwähnte Phänomen vor und ist nur zu sehen, wenn Tumoren für längere Zeit unter Beobachtung bleiben. Bei unseren Versuchen ist es gewöhnlich gleichzeitig mit der Verringerung der Größe, die zur spontanen Heilung der Schwestertumoren derselben Serien führt, aufgetreten, und war besonders ausgesprochen bei einem der Tumoren, von denen Clowes und Gaylord[1]) eine Karte veröffentlichten. Fig. 23 zeigt die Erscheinung bei einzelnen Tumoren des Jensenschen Carcinoms. Wenn die Fälle, die in einem Tumorstamm beobachtet wurden, mit Berücksichtigung der absoluten Fortpflanzungsdauer auf einer Prozentkurve aufgezeichnet werden, wie in Fig. 23, erweisen sie sich als merkwürdig gruppiert. Der Vorgang geht scheinbar gleichzeitig bei drei verschiedenen Stämmen desselben Tumors vor sich, von denen zwei einige Monate lang getrennt verpflanzt waren. Obgleich die Seltenheit des gleichzeitigen Auftretens dieses Phänomens bei solchen getrennten Stämmen die Möglichkeit des Zufalls sehr nahelegt, so läßt uns doch der ganze Charakter des Vorganges, verbunden mit dem, was wir schon eingehend mitgeteilt[2]) und oben erwähnt haben, sehr stark seine Abhängigkeit von periodischen Veränderungen der Parenchymzellen annehmen.

Die Prozentkurven der Impfausbeute verschiedener Tumorstämme zeigen insofern eine allgemeine Aehnlichkeit zueinander, als die Kurven einen auf- und absteigenden Kurs befolgen[2]). Die Häufigkeit und Größe der Schwankungen variieren von

Fig. 23. Kombinierte Prozentkurve und Silhouettenkarte, um vorübergehende simultane Verkleinerungen von drei Jensenschen Impftumoren aus drei getrennten Serien, 92 J——, 93 D . . . ., 94 D —.—.—., zu zeigen. In den Prozentkurven, welche die Abstammung der in Betracht kommenden Tumoren veranschaulichen, sind die Wachstumssilhouetten dreier einzelner Tumoren eingezeichnet in der Weise, daß das Datum, an welchem jede Silhouette gemacht war, den Ordinaten der Prozentkurve entspricht. Erste Chartierung 10 Tage nach der Impfung. Erstes Anzeichen der Rückbildung bei *; erneuertes Wachstum in allen drei Tumoren fast gleichzeitig.

1) Surgery, Gynaecology and Obstetrics, June 1906, p. 2.

2) Experimental analysis of the growth of cancer, loc. cit.

einem zum anderen Tumorstamm, so daß das Allgemeinbild charakteristisch und ziemlich beständig für jeden Tumorstamm ist. Die Deutung dieser Verschiedenheiten, die man leicht beim Vergleichen verschiedener Tumorenkurven erkennen kann, ist nicht sofort einleuchtend. Die Wachstumsschnelligkeit der Tumoren ist nur zum Teil für Amplitude und Frequenz der Wellen verantwortlich zu machen. Es ist klar, daß ein rasch wachsender Tumor in viel kleineren Zwischenräumen verpflanzt werden kann als ein langsam wachsender und daß infolgedessen, wenn der Prozentsatz der Impfausbeute rasch wechselt, die Kurve steiles Fallen und Steigen anzeigen wird. Wir finden jedoch bei schnell wie bei langsam wachsenden Tumoren, daß die auf- resp. absteigende Phase jeder Kurvenwelle manchmal sich über mehrere aufeinanderfolgende Transplantationen erstreckt, und die Kurve unabhängig von der neuen Impfung ihren Verlauf fortsetzt. Die Länge der Zeit, über die sich die wechselnden Phasen erstrecken, scheint konstanter zu sein als die Zahl der Ueberimpfungen. Der Endschluß, den wir aus unseren Beobachtungen über das Wachstum verschiedener Tumorstämme ziehen können, ist der, daß die Dauer der wechselnden Phasen von verringerter und vermehrter Wachstumsenergie ein immanenter Charakter der Parenchymzellen ist von analoger Art wie die Beständigkeit ihrer histologischen Struktur. Dieselben Schlüsse mögen aus der wechselnden Amplitude der Schwingungen in den verschiedenen Tumorstämmen gezogen werden. Tumoren, die gewöhnlich eine mäßige Impfausbeute geben — nicht immer die, welche am langsamsten wachsen — können natürlich nicht zwischen solch weiten Grenzen schwanken wie die, die selten, oder häufig, einen Maximalprozentsatz von Erfolg ergeben. Es gibt bis jetzt noch unbekannte biologische Eigentümlichkeiten der Tumorzellen, die sich nur auf diese Weise enthüllen.

Das Aussehen der Kurven wird nur in geringem Maße durch Zufälligkeiten der experimentellen Methode bestimmt. Auch durch Doppelimpfungen treten diese Schwankungen der Impfausbeute als Zeichen wechselnder Eigenschaften der Tumorzellen deutlich hervor in einer Weise welche ihre Unabhängigkeit von dem Wirtstiere demonstriert. Bashford,

Murray und Cramer haben gefunden[1]), und Borrel und Bridré[2]) haben die Beobachtung bestätigt, daß, wenn eine große Zahl von Mäusen gleichzeitig rechts und links mit Tumoren von verschiedener Angangsfähigkeit geimpft wird, die Zahl der angegangenen Tumoren derjenigen der Kontrollimpfungen der betreffenden Tumoren in getrennten Serien entspricht. Die Fortpflanzung der betreffenden Stämme durch aufeinander folgende Doppelimpfungen kann über längere Zeiten hin in ähnlicher Weise fortgesetzt werden, und dabei ergibt sich, daß die Prozentsätze der Impfausbeute der zwei Tumorstämme in denselben Mäusen unabhängig voneinander wie in parallelen Einzelimpfungen schwanken.

In einer Anzahl früherer Aufsätze[3]) ist die Aufmerksamkeit auf die eben erwähnte Schlußfolgerung gelenkt worden, ohne daß dadurch, vielleicht weil die Nachahmung unserer Versuche eine sehr mühselige sein dürfte, andere Forscher zu ebenso eingehenden Beobachtungen angeregt worden sind. Dieses Resultat ist aber nicht nur durch unsere späteren Beobachtungen bestätigt worden, sondern auch durch andere Forscher, z. B. Hertwig und Poll, Carl Lewin, durch die von Borrel und Bridré veröffentlichten Prozentsätze und den Stammbaum eines Pariser Tumors, durch Flexner und Jobling und nach einer brieflichen Mitteilung durch Eloesser in Czernys Institut in Heidelberg. Ganz kürzlich ist es auch von Calkins[4]) durch eine Prozentsatzkurve der Fortpflanzung des Brooklyn-Tumorstammes im Laboratorium zu Buffalo U.S.A. bestätigt worden. Diese Kurve zeigt dieselben Eigenheiten wie jene, die in diesem und früheren Aufsätzen beschrieben worden sind. Calkins versucht mittels einer zweiten in seiner Arbeit reproduzierten Kurve zu beweisen, daß die Schwankungen der Prozentsätze der Impfausbeute unabhängig von der Wachstumsenergie der Krebszellen sind. Um die letztere zu messen, nimmt er die ungefähre Zeit in Tagen, die die Tumoren jeder Generation brauchten, um

---

1) Natural and induced resistance to the growth of Cancer. Roy. Soc. Proc., B, Vol. 79, p. 175, 6. Dez. 1906.

2) loc. cit. p. 481.

3) loc. cit. p. 483.

4) Journal of experimental Medicine, May 1908.

die Mäuse zu töten. Wie wir immer angenommen haben [1]), kann die Angangsfähigkeit nur als ein willkürlicher Maßstab für die Wachstumsenergie angesehen werden, und in dieser Veröffentlichung zeigen wir, daß von Stamm zu Stamm die Angangsfähigkeit unabhängig von der Wachstumsenergie sich ändert, daß aber in jedem einzelnen Stamm eine ausgeprägte, wenn auch nicht absolute, Parallele zwischen beiden besteht.

Eine genauere Methode, um die Wachstumsenergie zu messen, besteht darin, daß die Größe der Tumoren einer Reihe in regelmäßigen Zeitintervallen als Silhouette gezeichnet und der Flächeninhalt davon benutzt wird, um eine Kurve zu konstruieren [2]). Auch ist es möglich, eine noch objektivere Messung zu erhalten, wenn man große Mengen Tumortiere in regelmäßigen Zwischenräumen tötet und die produzierte Gewebsmenge wiegt. Jede dieser Methoden wird ein korrekteres Messen der Wachstumsenergie zulassen als die von Calkins adoptierte, die unkontrollierte Fehler einschließt, da der Tod des Tieres ein sekundäres Resultat des Wachstums ist und von allerlei Faktoren beeinflußt werden kann. Nichtsdestoweniger zeigt Calkins' Kurve dieselbe Parallele zwischen Angangsfähigkeit und Wachstumsenergie, denn auch in ihr ist der Zeitraum, innerhalb welches die Mäuse sterben, kürzer, je höher die Impfausbeute ist. — Wir verstehen deshalb durchaus nicht, wie Calkins zu einem anderen Schluß kommt, und finden weder in unseren noch in seinen Ergebnissen irgendwelchen Beweis für die Annahme, daß die Schwankungen der Impfausbeute durch zyklisch auftretende Veränderungen in einem intracellulären Parasiten hervorgerufen werden. Die Angangsfähigkeit „Infektivität" zu nennen, heißt nur, den Tatsachen einen anderen Namen geben und ihr Verständnis durch eine zweifelhafte Analogie zu verdunkeln.

Wenn es auch augenblicklich nicht ratsam ist, irgendwelche Theorie über die Natur des Mechanismus dieser Schwankungen [3])

---

1) Roy. Soc. Proc., B, Vol. 78, p. 199 usw.

2) Contributions to the study of the development of sarcoma under experimental conditions. (Third Scientific Report of the Imperial Cancer Research, p. 204 und Fig. 40.)

3) Diese Schwankungen lassen sich durchaus nicht mit den von Bashford und Murray mit Vorbehalt aufgestellten, aber längst aufs

und ihrer Verwandtschaft zum Metabolismus des Krebses aufzubauen, so zeigt doch ihre Ubiquität, vier Tumoren ausgenommen, die anscheinend stets mit 90—100 Proz. angehen, vielleicht bei jedem Stamm, den wir studiert haben und bei den meisten von anderen studierten, ihre große Bedeutung. Wenn wir mögliche Zufälligkeiten berücksichtigen, so scheint doch das allgemeine Endergebnis dies zu sein, daß die Größe und Häufigkeit der Schwankungen der Wachstumsenergie bei denjenigen von unseren Tumorstämmen am größten sind, die am raschesten wachsen. Es ist augenblicklich sehr schwer, Versuche zu planen, die es uns möglich machen würden, tiefer in die Natur dieses Prozesses einzudringen. Wir halten es für möglich, daß die Wachstumsenergie von der Schnelligkeit, mit der diese Phasen im Leben der Zellen aufeinander folgen, abhängt. Dann wäre ein Fingerzeig gegeben betreffend die Natur der Zelltransformation, die bei der Genese des Krebses eine Rolle spielt, und wie dieselbe ihr scheinbar fortdauerndes (vegetatives) Wachstum aufrecht erhält.

7. Beziehungen zum Krebs des Menschen.

Unsere eigenen Untersuchungen und die anderer Forscher sind hauptsächlich mit der Absicht ausgeführt worden, die Faktoren zu beleuchten, die das Wachstum der Krebszellen im lebenden Körper fördern und hindern. Die künstliche Fortpflanzung ist viel weniger als Mittel, Licht auf die Natur der Krebswucherung selbst zu werfen, angewandt worden. Das fortdauernde Wachsen der Zellen, das bei dieser Forschungsmethode zutage tritt, ist gewöhnlich als etwas, was keine weitere Analyse gestattet, angesehen worden, quasi eine prinzipielle Eigenschaft der lebendigen Moleküle. Die künstliche Verpflanzung des Krebses aber gestattet nicht nur eine detaillierte Analyse der für das Wachstum günstigen oder ungünstigen Bedingungen, sondern sie läßt uns auch eine Analyse der scheinbar fortdauernden Wucherung selbst zu.

kategorischste zurückgenommenen Arbeitshypothese einer auf heterotypische Kernteilung nachfolgenden Kernkopulation vereinigen. Vide Proc. Roy. Soc., B, Vol. 77, 1906: Second Scientific Report of Imperial Cancer Research, 1905, usw.

Die Verschiedenheiten 1) des Erfolgsprozentsatzes, wenn ein spontaner oder ein transplantabler Tumor zu verschiedenen Zeiten verpflanzt wird, 2) der Wachstumsschnelligkeit des transplantierten Tumors, 3) der Empfindlichkeit gegen Veränderungen der Impfdosis und 4) gegen simultane Immunisierung, und wir mögen auch noch 5) die Leichtigkeit, mit welcher die Ueberimpfung auf fremde Rassen vollführt werden kann, hinzufügen, haben alle das gemeinsam, daß sie zum großen Teil durch Verschiedenheiten der Zellen zu verschiedenen Zeiten bedingt werden. Die Beobachtungen weisen darauf hin, daß diese Verschiedenheiten durch Wechseln negativer und positiver Phasen der Wachstumsenergie der Krebszellen erzeugt werden. Dieser Wechsel der Wachstumsenergie, der durch experimentelle Untersuchungen klargelegt ist, scheint von fundamentaler Bedeutung für ein besseres Verständnis der Krankheit zu sein. Eigenschaften der Zellen sind enthüllt worden, welche bei dem Studium des Menschenkrebses nicht zur Verwertung kamen, weil sie in dem verwickelten klinischen Verlauf der Krankheit fast völlig verdeckt, und in den Hintergrund gedrängt waren, so daß man sie mit größtem Mißtrauen betrachtete. Dieser Wechsel der Wachstumsenergie erschließt uns Phänomene, die häufig beim Verlauf der bösartigen Geschwülste beim Menschen beobachtet worden sind, nämlich daß Tumoren, obgleich sie im allgemeinen fortschreitend wachsen, Perioden von Besserung und Verschlimmerung zeigen, entweder im primären Tumor oder in seinen Metastasen. Sie erlauben uns auch präzisere Begriffe über den Grund für die Spontanheilung partiell entfernter Tumoren oder solcher, die als chirurgisch inoperabel sich selbst überlassen wurden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Krebszelle in den negativen Wachstumsphasen gegen allerlei schädigende Einflüsse empfindlicher ist; insbesondere gegen die durch Absorption homologen krebsigen Gewebes hervorgerufenen Modifikationen des Wirtstieres, zu denen wir uns jetzt wenden.

Zweiter Teil.

Wachstumshemmende und -fördernde Einflüsse.

Die experimentelle Uebertragung von Tierkrebs von Tier auf Tier, hat die Möglichkeit geschaffen, die Wachstumsbedingungen maligner Tumoren näher zu studieren. Insbesondere ist solchen das Wachstum hemmenden Bedingungen von allen Forschern spezielle Aufmerksamkeit gewidmet worden, in der Hoffnung, eine rationelle Therapie der menschlichen malignen Tumoren zu befördern.

In dieser Verbindung darf aber die Differenz nicht vergessen werden, die zwischen der Genese maligner Proliferation in dem spontan erkrankten Tiere und dem späteren kontinuierlichen Wachstum der Krebszellen, sowohl in dem spontan erkrankten Tiere als auch in normalen geimpften Tieren besteht. Obwohl in dem Folgenden die Ausdrücke „Immunität", „immune" Mäuse etc. häufig benutzt werden, geschieht dies nur der Bequemlichkeit halber und muß in keinem Falle mit einer herabgesetzten Disposition für die Entwicklung spontaner Krebse identifiziert werden. Diese Worte bedeuten nur, daß die Tiere so modifiziert worden sind, daß die Inokulation von intakten Tumorzellen in diesen Tieren kein Geschwulstwachstum hervorruft.

Bei der Besprechung der allgemeinen Resultate der Transplantation von Mäusetumoren ist schon die Bedeutung technischer Details betont worden. Alles, was da gesagt worden ist, bezieht sich in noch höherem Grade auf Experimente, die Wachstumsunterschiede in auf verschiedene Weise behandelten Tieren zeigen sollen. Es ist in allen solchen Experimenten unumgänglich nötig, daß die vorbehandelten Tiere in Rasse, Alter, Gewicht und allgemeiner Gesundheit mit den Kontrolltieren genau übereinstimmen. Weiter muß das Inokulationsmaterial so gleichmäßig wie möglich unter die Tiere verteilt werden. Zu diesem Zweck muß die Inokulationsstelle und die inokulierte Dosis identisch sein und die letztere genau gemessen werden. Wenn die Impfung mit Hohlnadel und Stilett geschieht, wird eine gleichmäßige Dosierung durch eine sorgfältige Auswahl der Stückchen erreicht. Wenn die Spritzenmethode gebraucht wird, muß die Tumoremulsion so

gleichmäßig wie möglich sein und durch scharfe schneidende Instrumente, und nicht durch Zerquetschen hergestellt werden. Die Dosierung mit der Spritzenmethode geschieht durch Messung des Volums, und wenn dieses klein ist, ist es von Bedeutung, die kleinste Nadel zu gebrauchen, die die Stückchen der Emulsion passieren läßt.

Die Quantität der immunisierenden Substanzen muß sehr genau angegeben werden. Es ist einleuchtend, daß es unmöglich sein würde, die Schutzwirkung zweier verschiedenen Gewebe (z. B. normaler und krebsiger) zu vergleichen, wenn ungleiche und nicht gemessene Mengen beider eingeführt worden sind. Das Zeitintervall zwischen der vorausgehenden Behandlung und der prüfenden Geschwulstimpfung muß auch genau angegeben werden. Die Bedeutung des letzteren geht aus den in Fig. 34 und 36 wiedergegebenen Versuchen hervor. Es ist kaum zweifelhaft, daß, wenn die Experimente verschiedener Forscher auf diese Weise genau protokolliert werden können, manche von den anscheinenden Widersprüchen verschwinden werden.

Es ist wünschenswert, die Bedeutung zufälliger individueller Verschiedenheiten in der Empfänglichkeit der Tiere für Geschwulstimpfung zu erwägen. Die negativen Resultate nach der Impfung werden gewöhnlicherweise natürlicher Resistenz der Tiere zugeschrieben. Wahrscheinlich werden genauere Begriffe die unbestimmten Ausdrücke „natürliche Resistenz“ oder „Immunität“ oder „Athrepsie“ substituieren müssen, um das wechselnde numerische Verhältnis von positiven und negativen Impfresultaten bei verschiedenen Geschwulststämmen zu erklären, wie schon früher betont worden ist (p. 483). Unter Berücksichtigung der nötigen Vorsichtsmaßregeln, und wenn eine genügend große Anzahl von Tieren inokuliert worden ist, sind die Resultate der Experimente hierdurch nicht wesentlich beeinträchtigt.

Daß eine negative Impfausbeute in normalen Tieren aller Wahrscheinlichkeit nach nicht durch normalerweise schon vorhandene Antikörper im Serum bedingt ist, zeigt sich dadurch, daß für die Transplantation von Spontantumoren kleine Dosen bessere Ausbeute als große Dosen geben.

Auf das Postulat von Hertwig und Poll, daß der Unterschied in der Impfausbeute zwischen vorbehandelten und

1—10
Kontrollen.
Normale Ratten.
Durchschnittsgewicht 35 g.

11—15
0,1 ccm Mäusesarkom.
15. Nov. 1907
Durchschnittsgewicht 34 g.

16—26
0,1 ccm Katzensarkom.
18. Nov. 1907
Durchschnittsgewicht 33,5 g.

14/12 21/12 28/12 5/1 11/1

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

11 12 13 14 15

16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

10 cm

Fig. 24. Vergleich zwischen dem Wachstum eines Spindelzellensarkoms (Jensens Rattensarkom) in normalen Ratten und in Ratten, die mit Mäuse- resp. Katzensarkom vorbehandelt sind.

Die erste Reihe (1—10) normale Ratten, Kontrollen.
Die zweite Reihe (11—15) mit 0,10 ccm Mäusesarkom vorbehandelte Ratten 18 Tage vor der Impfung.
Die dritte Reihe (16—26) mit 0,10 ccm Katzensarkom vorbehandelte Ratten, 15 Tage vor der Impfung.

Sämtliche Ratten sind am 3. Dez. 1907 mit 0,05 ccm Emulsion von Jensens Rattensarkom in die rechte Axilla inokuliert worden. Die erste Chartierung ist 11 Tage nach der Impfung gemacht worden, später alle 8 Tage.

Vorbehandlung der Ratten mit Sarkomen fremder Tierarten gibt keine Resistenzsteigerung gegen Impfung mit transplantablem Rattensarkom.

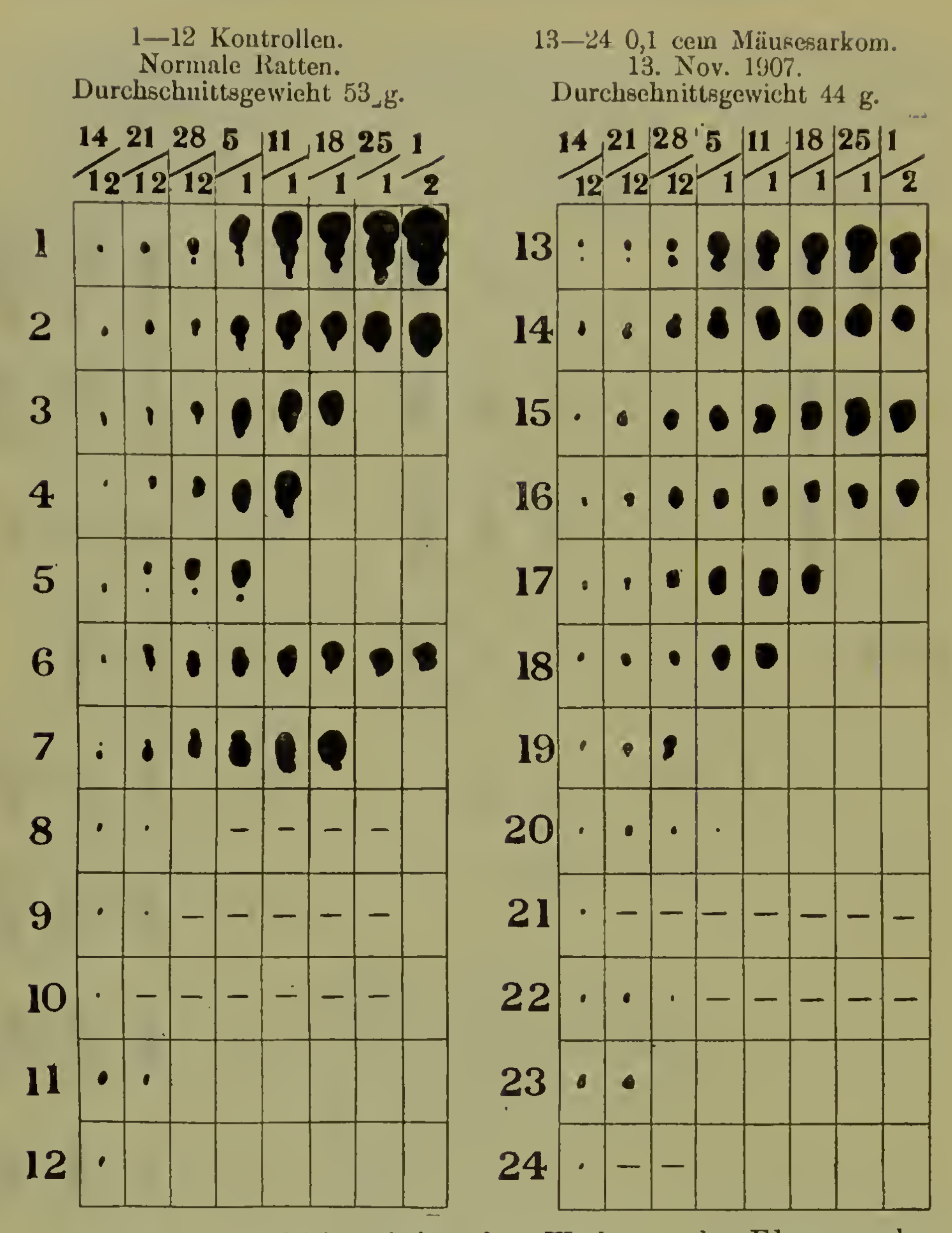


Fig. 25. Vergleich zwischen dem Wachstum des Flexner schen Rattencarcinoms in normalen Ratten und in Ratten, die mit Mäuse- resp. Katzensarkom vorbehandelt worden sind.

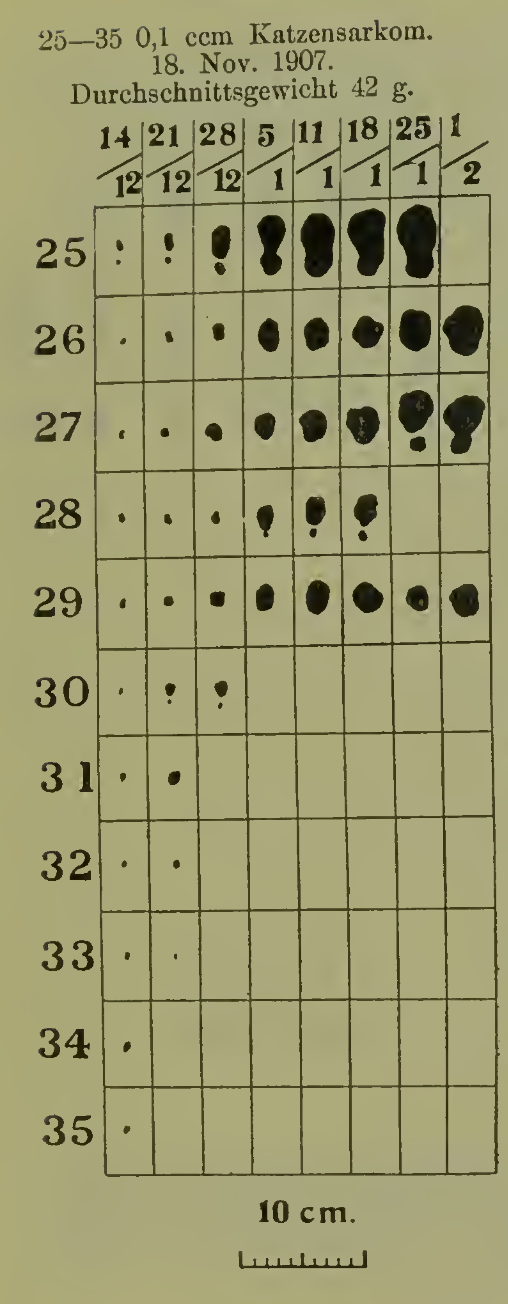
Die erste Reihe (1—12) normale Ratten, Kontrollen.

Die zweite Reihe (13—24) mit Mäusesarkom vorbehandelte Ratten, 0,10 ccm subkutan am Rücken, 19 Tage vor der Impfung.

Die dritte Reihe (25—35) mit Katzensarkom vorbehandelte Ratten, 0,10 ccm subkutan am Rücken, 14 Tage vor der Impfung.

Sämtliche Ratten sind am 2. Dez. 1907 mit 0,02 g Rattencarcinom in die rechte Axilla geimpft worden.

Keine Resistenzsteigerung durch Vorbehandlung mit Tumoren fremder Tierarten.



normalen Mäusen nur durch unkontrollierbare zufällige Unterschiede in natürlicher Resistenz bedingt ist, brauchen wir hier nicht einzugehen, um so weniger, als Ehrlich schon das Unhaltbare dieser Ausführungen gezeigt hat[1]).

Um die Notwendigkeit von genauer Dosierung und ihrer Bedeutung für Immunitätsexperimente wieder hervorzuheben, sei auf das p. 387 u. ff. Gesagte und Fig. 19 und 20 verwiesen.

In unseren Experimenten haben wir Dosen von sehr verschiedener Größe gebraucht. Es ist kaum vorteilhaft für praktische Zwecke, mehr als 0,2 ccm Gewebsemulsion oder mehr als 0,5 ccm defibrinierten Blutes zu inokulieren, da bei größeren Gaben die Gefahr sekundärer Infektion steigt und solche Serien überhaupt nicht gebraucht werden können.

Es ist von gewissem Vorteil, eine Dosis immunisierender Substanzen zu wählen, die eben genügt, um nachweisbare Resistenz hervorzurufen, ohne ihre spezifische Natur oder die quantitativen Beziehungen, die zwischen der Menge der immunisierenden Substanz und dem Grad der erhaltenen Resistenz bestehen, zu verwischen.

Die in diesem Aufsatze gegebenen Versuchsprotokolle sind als typische Beispiele aus einer großen Anzahl ausgewählt.

1) Die Genese des Carcinoms. Verh. d. Deutsch. Path. Ges. zu Kiel 1908.

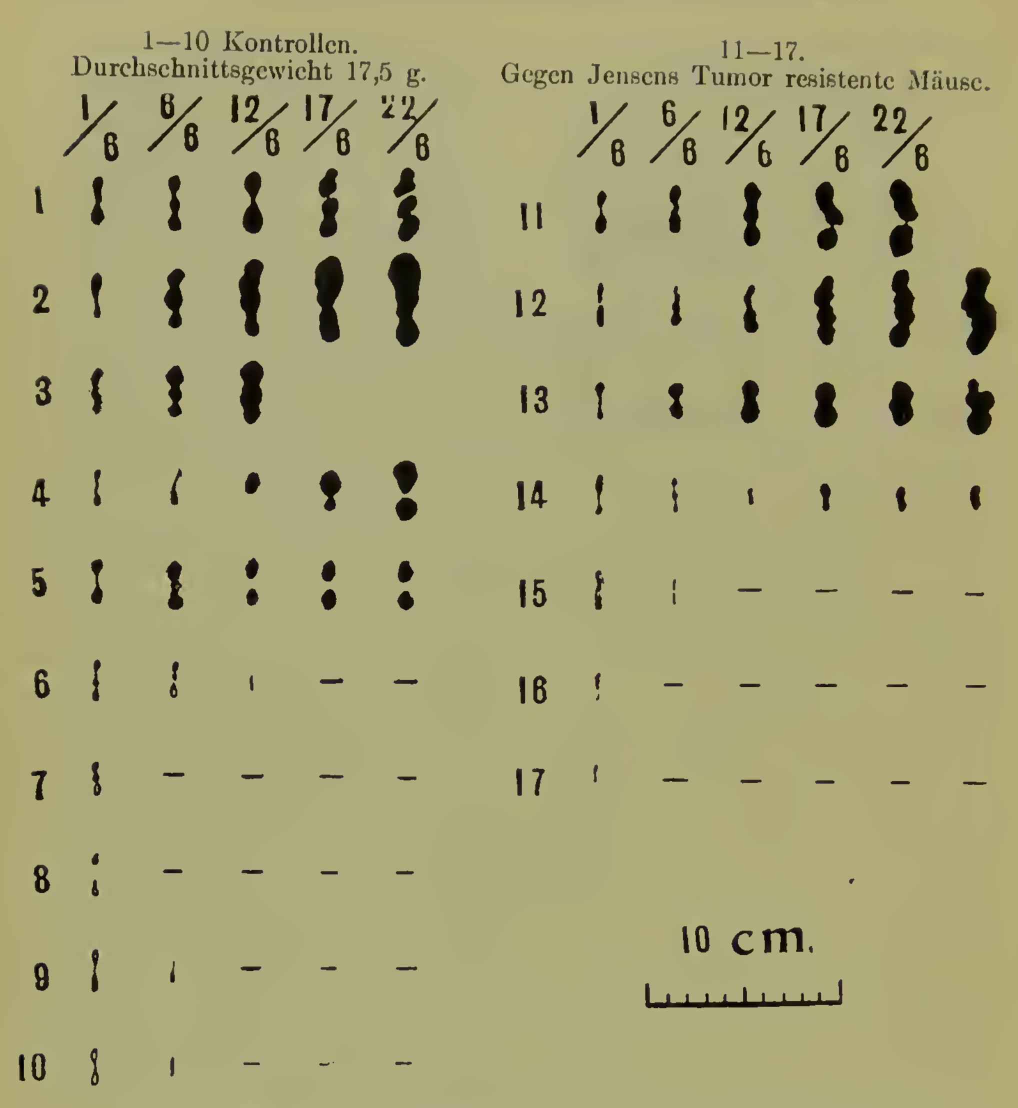


Fig. 26. Exp. 32/9 J. Vergleich zwischen dem Wachstum eines transplantierbaren Plattenepithelcarcinoms der Maus (Tumor 32) in normalen Mäusen und in gegen Jensens Carcinom immunisierten Mäusen, zugleich in solchen, die gegen ein Adenocarcinom der Mamma (Tumor 37) resistent waren.

Die erste Reihe (1—10) normale Mäuse, Kontrollen.
Die zweite Reihe (11—17) gegen Jensens Carcinom resistente Mäuse, die noch eine Injektion von 0,25 ccm Jensens Carcinom 4 Wochen vor der Impfung bekommen hatten.
Die dritte Reihe (18—31) gegen ein Adenocarcinom der Mamma (Tumor 37) resistente Mäuse.

Alle Mäuse sind am 22. Mai 1907 mit 0,05 ccm Plattenepithelkrebs in die linke Axilla injiziert worden.

Der Plattenepithelkrebs wächst in diesem Versuch beinahe ebenso gut in gegen Jensens Tumor resistenten Mäusen wie in normalen Mäusen und nur wenig schlechter in den gegen Adenocarcinom der Mamma resistenten Mäusen.

18—31.
Gegen Tumor 37 resistente Mäuse.

	1/6	6/8	12/8	17/8	22/8
18					
19	–	–	–	–	–
20					
21		–	–	–	–
22		–	–	–	–
23		–	–	–	–
24	–	–	–	–	–
25	–	–	–	–	–
26	–	–	–	–	–
27	–	–	–	–	–
28	–	–	–	–	–
29		–	–	–	
30	–	–	–		
31	–	–	–		

In dieser Weise kann viel wörtliche Beschreibung vermieden und gleichzeitig der Wert des Beweismaterials auch denen zugänglich gemacht werden, die selbst keine persönliche Erfahrung über experimentelle Tumoren besitzen.

1. Artspezifizität der Resistenz nach Tumorresorption.

Eine deutlich gesteigerte Resistenz gegen nachfolgende Tumorimpfung ist nur durch Vorimpfung mit Geschwulstmaterial von derselben Tierspecies zu erreichen. Resorption von Rattengeschwülsten schützt Mäuse nicht gegen nachfolgende Impfung mit Mäusegeschwülsten, und mit Mäusetumoren vorbehandelte Ratten sind gegen Impfung mit transplantierbaren Rattentumoren nicht resistent. Fig. 24 und 25 zeigen die Anordnung und das Resultat solcher Versuche. In Fig. 24 sind (1—10) normale Ratten (11—15) mit Mäusesarkom und (16—26) mit Katzensarkom vor 18 resp. 15 Tagen vorbehandelt. Sie sind sämtlich mit Jensens Rattensarkom injiziert worden (Dosis 0,05 ccm). Ein Unterschied in der Tumorentwicklung zwischen den normalen und vorbehandelten Tieren zu Ungunsten der letzteren ist nicht zu konstatieren. Fig. 25 zeigt, daß auf dieselbe Weise

vorbehandelte Ratten gegen die Nachimpfung mit Flexners Rattencarcinom gar nicht refraktär sind. Wenn wir quantitativ arbeiten, sind wir also nicht imstande, mit Geschwulstmaterial von anderen Tierarten eine Resistenz gegen Tumorimpfung zu produzieren oder, wo eine solche schon vorhanden ist, dieselbe zu steigern.

2. Gewebsspezifizität der Resistenz nach Tumorresorption.

Die auf Resorption von Tumormaterial folgende Resistenz ist am größten gegen spätere Nachimpfung mit demselben Tumor, dagegen weniger ausgesprochen gegen andere Tumoren von ähnlicher Histogenese und noch weniger gegen Tumoren von verschiedener Histogenese. Während die Schutzwirkung gegen denselben Tumor, der für die erste Impfung gebraucht worden war, in den meisten Fällen sehr groß und oft komplett ist, ist sie selten gegen einen anderen Tumor sehr ausgeprägt, selbst wenn der letztere in den Kontrolltieren schlechter wächst, als der Tumor, gegen welchen der Schutz absolut ist. Fig. 26, 27 und 28 illustrieren dies Verhältnis. In Ehrlichs Versuchen schien die Schutzwirkung allgemeiner Natur zu sein, und von gleicher Stärke selbst zwischen Carcinom und Sarkom; er hat deshalb dieser allgemein erscheinenden Protektion den Namen Panimmmunität gegeben. Während wir ihre Existenz als eine durch Mäusegewebe hervorgerufene allgemeine Resistenzsteigerung zugeben, halten wir doch daran fest, daß es außerdem nach Resorption eines Tumors eine noch stärkere Protektion gibt, die spezifisch ist und hauptsächlich gegen ihn selbst gerichtet, wie genaue quantitative Versuche mit gleichzeitiger Berücksichtigung des Alters der Tiere es zeigen.

Ehrlich zeigte, daß die Resorption von größeren Mengen von Spontantumoremulsion eine deutliche Resistenzsteigerung gegen nachfolgende Geschwulstimpfung hervorrief. In den Fällen, in welchen große Dosen von Spontantumoren injiziert worden sind, können wir die Ehrlichsche Beobachtung bestätigen. Wenn aber die immunisierende Dosis nicht größer als 0,10 ccm ist, ist der Effekt oft sehr geringfügig, und gelegentlich, wenn die zweite Inokulation erst nach einem größeren Zeitintervall folgt, kann Hypersensibilität beobachtet werden. Wenn wir diese Schutzwirkung der Spontantumoren mit dem

Durchschnittsgewicht der Mäuse 13,3 g.

9,5 g.

1/10 8/10 15/10 29/10 11/11 16/11 21/11

r r r r l l l

11/11 16/11 21/11

l l l

1—3 aus Exp. 32/17 B
21. Sept. 07 Dosis 0,025.
67 Proz. Impfausbeute.

4—9 aus Exp. 32/17 D
27. Sept. 07 Dosis 0,025.
47 Proz. Impfausbeute.

10 cm.

Fig. 27. Exp. 37 sarc./14 E. Wachstum eines Spindelzellensarkoms in Mäusen, die gegen Plattenepithelkrebs resistent sind, mit dem Wachstum in normalen Mäusen verglichen.

Die erste Reihe (1—9) sind Mäuse, in welchen der Plattenepithelkrebs nach einem vorübergehenden Wachstum (in den vier ersten vertikalen Reihen des Protokolls wiedergegeben) zu Resorption gekommen sind; ca. 1 Monat später sind dieselben Mäuse mit Sarkom in die andere Axilla geimpft. Das Wachstum des Sarkoms unter 11/11—16/11—21/11 nachzusehen.

Die zweite Reihe (10—26) normale Mäuse, Kontrollen.

Sämtliche Mäuse sind am 1. Nov. 1907 mit 0,025 ccm Sarkomemulsion in die linke Axilla injiziert worden. Die erste Chartierung des Sarkomwachstums 10 Tage später, am 11. Nov. 1907. r = rechts; l = links.

Spindelzellensarkom wächst ganz gut in Mäusen, die sich gegen Plattenepithelkrebs resistent erwiesen.

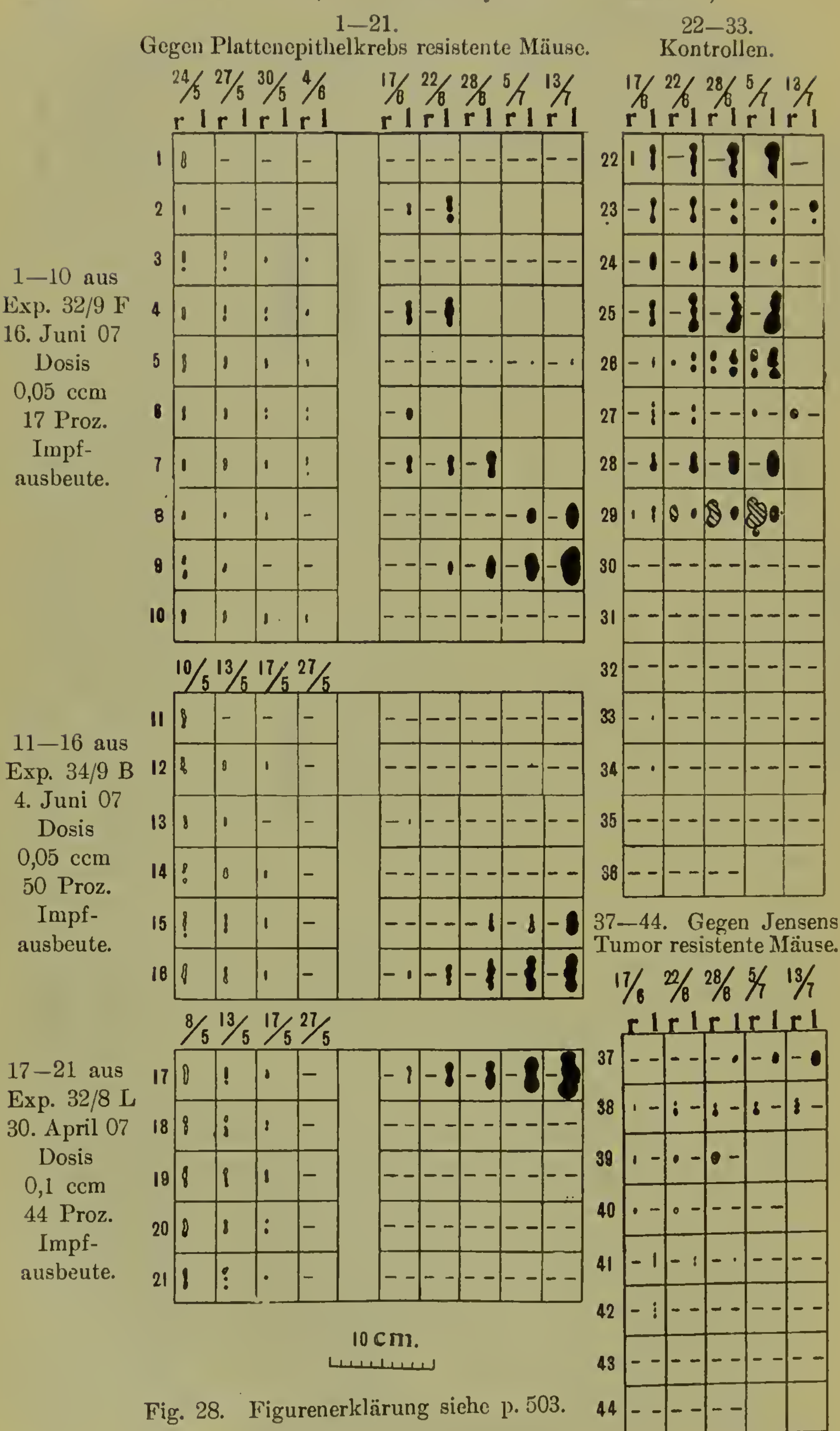


Fig. 28. Figurenerklärung siehe p. 503.

immunisatorischen Effekt derselben Gaben von normalen Geweben vergleichen, wie in später erwähnten Versuchen, kann der Schluß mit großer Wahrscheinlichkeit gezogen werden, daß der Spontantumor eher wegen seiner Eigenschaften als Mäusegewebe denn als Krebs wirksam ist.

3. Gewebsspezifizität der Resistenz nach Resorption von normalen Geweben.

Vorbehandlung mit normalen Geweben kann die Empfänglichkeit für nachfolgende Tumorimpfung herabsetzen.

In den schon im Jahre 1904 angestellten Versuchen mit Normalgeweben haben anfangs Bashford, Murray und Cramer die Hauptaufmerksamkeit auf die Wirkungen der Mäuseblutabsorption bei normalen Mäusen gelenkt, nicht nur wegen der Schwierigkeit des Arbeitens mit anderen Geweben, sondern auch wegen der Beobachtung, daß Hämorrhagien häufig während des Heilungsprozesses der Tumoren nach Bestrahlung mit Radium und während Spontanheilung auftraten. Eine Anzahl hämorrhagischer Tumoren, die zuerst gut angegegangen waren, wurden als besonders zu Spontanheilung neigend befunden, in diesem Falle wäre dieser Umstand mit dem wohlbekannten Faktor im menschlichen Chorion-Epithelioma vergleichbar.

Diese Versuche mit normalem Gewebe zeigten, daß normales Mäuseblut gegen Impfung mit Jensens Carcinom schützte (Annual Report of Imp. Cancer Research Fund, July

Fig. 28. Illustriert die Spezifizität der Resistenz nach Resorption von Tumorgewebe. Wenn zwei Gruppen von Mäusen, die je mit einem von zwei verschiedenen Tumoren vorbehandelt worden sind, nachher gleichzeitig mit den beiden Tumoren geimpft werden, zeigen sich die Mäuse hauptsächlich nur gegen denselben Tumor geschützt, mit welchem sie vorbehandelt waren, während gegen den anderen Tumor keine Resistenz zu bestehen braucht.

Die erste Gruppe (1—26) Mäuse, in welchen Plattenepithelkrebs nach vorübergehendem Wachstum zur Resorption gekommen ist (die ersten 4 vertikaleu Reihen unter $^{24}/_{5}$ bis $^{4}/_{6}$ zeigen dieses Wachstum).

Die zweite Gruppe (22—36) normale Mäuse, Kontrollen.

Die dritte Gruppe (37—44) Mäuse, in welchen Jensens Tumor nach vorübergehendem Wachstum resorbiert worden ist.

Sämtliche Mäuse sind am 7. Juni 1907 gleichzeitig mit 0,025 ccm Plattenepithelkrebs (Tumor 32) in die rechte Axilla (r.) und mit 0,025 ccm Jensens Carcinom in die linke Axilla (l.) geimpft worden. Die Plattenepitheltumoren sind im Protokoll schraffiert, das Jensensche Carcinom ganz schwarz bezeichnet.

Durchschnittsgewicht der Mäuse

14,2 g.	9/6	15/6	22/6
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			—
10		—	—
11		—	—
12		—	—
13	—		
14	—	—	—
15	—	—	—
16	—	—	—
17	—	—	—
18	—	—	—
19	—	—	—
20	—	—	—
21	—	—	—
22	—	—	—
23	—	—	—
24	—	—	—
25	—	—	—
26	—	—	—
27	—	—	—
28	—	—	—
29	—	—	—
30	—	—	—

13,5 g.	9/6	15/6	22/6
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			
38			
39			
40			
41			
42			
43			
44			
45			
46			
47			
48			
49			
50			
51			—
52			—
53			—
54		—	—
55	—		
56	—	—	
57	—	—	—
58	—	—	—
59	—	—	—

15,3 g.	9/6	15/6	22/6
60			
61			
62			
63			
64			—
65			
66			
67			
68			
69			—
70			
71			
72			
73			
74			—
75	—	—	—

10cm.

Fig. 29. Resistenz gegen Jensens Carcinom nach Vorbehandlung mit defibriniertem Mäuseblut, jedoch nicht nach Vorbehandlung mit defibriniertem Kaninchenblut.

Die erste Reihe (1—30) Mäuse, denen 11 Tage vor der Impfung je 0,50 ccm defibriniertes Mäuseblut unter die Haut des Rückens injiziert worden war.

Die zweite Reihe (31—59) normale, nicht vorbehandelte Mäuse, Kontrollen.

Die dritte Reihe (60—75) Mäuse, mit 0,50 ccm defibriniertem Kaninchenblut unter die Haut des Rückens 11 Tage vor der Impfung injiziert.

Sämtliche Mäuse sind am 30. Mai 1908 mit 0,025 ccm Jensens Tumor in die rechte Axilla geimpft worden. Die erste Chartierung 10 Tage nach der Impfung.

1906)[1]. Das Blut anderer Tierarten (Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen, Hund) zeigte nicht diese Schutzwirkung. Die weitere Analyse ergab, daß die Blutkörperchen die aktiven Elemente waren, während das Serum allein nicht wirksam war. Es zeigte sich keine Differenz zwischen Blutkörperchen oder Serum von normalen und resistenten Tieren. Das von normalen Mäusen gewonnene Vollblut entfaltet ebenso hohe Schutzwirkung gegen Nachimpfungen, wie das Blut von Tieren, die durch Spontanheilung von ihren Tumoren befreit worden waren, im Gegensatz zu den von Clowes mitgeteilten höheren carcinomfeindlichen Eigenschaften des letzteren. Die durch Blutinjektion hervorgerufene Resistenzsteigerung ist in Fig. 29 für das Jensensche Carcinoma demonstriert.

Diese grundlegenden Versuche für die durch normale Gewebe produzierte Immunität bezogen sich nur auf gewisse Dosen von Jensens Tumor. Durch größere Dosen konnte die Resistenz überwunden werden, und die Resultate dürfen nicht verallgemeinert werden. Andere Forscher haben diese Versuche wiederholt und sie für verschiedene andere Tumoren bestätigt, z. B. Lewin für sein Rattensarkom, Flexner und Jobling für ihren Rattentumor, während andere, z. B. Ehrlich, Schöne und Apolant nicht imstande waren, denselben Grad von Resistenz zu erhalten, und den Schluß gezogen haben, daß dies Verhältnis durch eine höhere Virulenz ihrer Tumoren bedingt sei. Wie schon hervorgehoben, war die Verallgemeinerung unserer Befunde nicht von uns gemacht worden. Andere unserer Tumoren zeigen dieses Verhältnis nicht ausgesprochen. Fig. 30 zeigt das Protokoll eines Versuches mit einem hämorrhagischen Mäusecarcinom (Tumor 50). Die durch Vorbehandlung mit Blut gegen diesen Tumor erhaltene Resistenzsteigerung bleibt, wie Gierke[2]) schon mitgeteilt hat, hinter der für den Jensenschen Tumor in Fig. 29 gezeigten weit zurück. Für andere Tumoren, bei denen wir die Blutimmunität probiert haben (ein Plattenepithelcarcinom [Tumor 32] und ein langsam wachsendes Mammaadenocarcinom [Tumor 27]), ist das Resultat fast negativ. Wir sehen also, sowohl nach unserer eigenen Erfahrung, als in den

1) Brit. med. Journ., July 28, 1906.

2) Die hämorrhagischen Mäusetumoren. Zieglers Beiträge, 1908.

Durchschnittsgewicht der Mäuse

16,75 g. 16,5 g.

27/4 4/5 11/5 18/5 25/5 1/6

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

27/4 4/5 11/5 18/5 25/5 1/6

21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39

10 cm.

Fig. 30. Figurenerklärung s. p. 507.

von anderen Forschern erhaltenen widersprechenden Resultaten nur weitere Zeugnisse dafür, daß die Wachstumsbedingungen für verschiedene Geschwülste spezifisch sind und daß die für einen bestimmten Tumor ungünstigen Bedingungen nicht notwendigerweise gegen andere Geschwülste wirksam sein müssen.

Schöne[1]) zeigte, daß Resistenzsteigerung auf Injektion von Mäuseembryonen-Emulsion folgen konnte. Dies repräsentierte einen bedeutenden technischen Fortschritt, weil es relativ leicht ist, große Mengen steriler Mäuseembryonen zu erhalten, während in Blutversuchen immerhin eine gewisse Gefahr für Infektion des gesamten defibrinierten Blutes durch einzelne Fälle von Sepsis in den zahlreichen entbluteten Tieren und während der immer lange dauernden Herstellung vorhanden ist.

Schöne hat nicht die Größe der immunisierenden Injektion und der nachfolgenden Impfdosis näher angegeben. Wir haben mit unseren Tumoren Schönes Resultate bestätigen können, und haben in gleicher Weise, wie wir den Effekt der einzelnen Komponente des Blutes analysiert hatten, zeigen können, daß die verschiedenen Gewebe des Mausembryos (einzeln genommen) nicht eine gleichmäßige Schutzwirkung gegen unsere transplantierbaren Tumoren entfalten. Borrel und Bridré haben auch die immunisierende Wirkung der isolierten Mäusegewebe mit genauer Rücksicht auf Dosierung studiert. Sie haben erhöhte Resistenz mit Leber, Milz und Gehirn, aber nicht mit Testis erhalten.

Da wir außer zahlreichen Mammacarcinomen von wechselnder Histologie noch ein Plattenepithelcarcinom, ein Spindelzellensarkom und ein Osteochondrosarkom, alle transplantierbar, besaßen, und dazu noch übertragbares Sarkom und ein ebensolches Carcinom der Ratte, haben wir unsere Versuche in instruktiver Weise variieren können. Von beinahe ausgetragenen

Fig. 30. Geringfügige Schutzwirkung gegen nachfolgende Impfung mit hämorrhagischem Mäusecarcinom (Tumor 50) nach vorgehender Behandlung mit defibriniertem Mäuseblut.

1—20, normale Mäuse, Kontrollen.
21—39, Mäuse, denen 0,30 ccm defibriniertes Mäuseblut unter die Haut des Rückens 16 Tage vor der Impfung injiziert worden waren.

Sämtliche Mäuse am 16. April 1908 mit 0,025 ccm Emulsion von Tumor 50 in die rechte Axilla geimpft. Die erste Chartierung 11 Tage später. (Exp. 50/9 H.)

1) Münch. med. Wochenschr., Dez. 1906, No. 51.

Mäuseembryonen ist es leicht, die Haut in großen Fetzen abzuziehen, und wir sind dadurch imstande, auf der einen Seite die Haut allein, auf der anderen Seite den Rest der embryonalen Gewebe, für immunisatorische Zwecke getrennt zu verwenden. Weiter können wir durch Auspräparierung der Mammae [1]) aus graviden Weibchen Mamma beinahe rein erhalten.

Wenn wir die Resultate kurz zusammenfassen, ist die durch isolierte, normale Gewebe hervorgerufene Resistenz gegen verschiedene Tumoren nicht gleichmäßiger Art. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß die Schutzwirkung eines normalen Gewebes desto größer ist, je näher verwandt es in histogenetischer Beziehung mit dem für die spätere Impfung gebrauchten Tumor ist. Die Schutzwirkung braucht nicht hinter der durch Tumorbrei hervorgerufenen zurückzubleiben und kann sogar eine absolute sein.

Die Fig. 31 illustriert die Resultate eines solchen Versuches. Die erste Reihe (1—20) sind normale Mäuse (Kontrollen), die Tiere der zweiten Reihe (21—33) sind mit enthäuteten Embryonen, diejenigen der dritten Reihe mit Embryohaut allein vorbehandelt worden. Alle sind 17 Tage nach der Vorbehandlung der zweiten

Kontrollen.
Durchschnittsgewicht der Mäuse
16,5 g.

30/9 7/10 14/10 21/10 28/10

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

1) Bashford, Murray u. Haaland, Berl. klin. Wochenschr., Sept. 1907, No. 38—39.

0,1 ccm Embryoemulsion. — Durchschnittsgewicht der Mäuse 15,5 g.

	30/9	7/10	14/10	21/10	28/10	
21						
22						
23						
24						
25						
26	—	—	—	—	—	—
27	—	—	—	—	—	—
28	—	—	—	—	—	—
29	—	—	—	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—
31	—	—	—	—	—	—
32	—	—	—	—	—	
33	—	—	—	—	—	

10 cm.

0,05 ccm Hautemulsion. — Durchschnittsgewicht der Mäuse 17,1 g.

	30/9	7/10	14/10	21/10
34				
35		—	—	—
36	—	—	—	—
37	—	—	—	—
38	—	—	—	—
39	—	—	—	—
40	—	—	—	—
41	—	—	—	—
42	—	—	—	—
43	—	—	—	—
44	—	—	—	—
45	—	—	—	—
46	—	—	—	—
47	—	—	—	—

Fig. 31. Resistenz gegen Impfung mit Plattenepithelkrebs nach Vorbehandlung mit normalen Mäusegeweben.

1—20, normale Mäuse, Kontrollen.

21—33, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von enthäuteten Mäuseembryonen subkutan am Rücken 17 Tage vor der Impfung vorbehandelt.

34—47, Mäuse, mit 0,05 ccm Emulsion von Haut von Mäuseembryonen subkutan am Rücken 17 Tage vor der Impfung vorbehandelt.

Sämtliche Mäuse am 20. Sept. 1907 mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs (Tumor 32) in die rechte Axilla geimpft. Erste Chartierung 10 Tage später. (Exp. 32/17 A.)



Fig. 32. Figurenerklärung s. p. 511.

und dritten Reihe mit Plattenepithelkrebs geprüft worden. Während die mit enthäuteten Embryonen vorbehandelten Mäuse in diesem Versuch nur in geringem Grade weniger empfänglich als normale Tiere erschienen, sind die mit Haut vorbehandelten Mäuse hochresistent. Dieser immunisatorische Effekt der Embryohaut ist für den Plattenepithelkrebs (Tumor 32) konstant, und ist in verschiedenen anderen Protokollen demonstriert worden (Fig. 32—36). Auf der anderen Seite vermag Mammaemulsion gegen das Wachstum des Plattenepithelcarcinoms nur geringfügigen Schutz auszuüben (siehe Fig. 32) und mag sogar, wie Fig. 33 zeigt, nach einem gewissen Zeitintervall, eine entgegengesetzte Wirkung haben, nämlich Hypersensibilität. Ein ähnliches Resultat ist gelegentlich nach Vorbehandlung mit hautfreien Embryonen zu beobachten (Fig. 34). Gegen Mammatumoren aber scheint der Schutzeffekt der Mamma größer zu sein. Dagegen ist der immunisatorische Effekt von Hautinjektion nicht auf das Plattenepithelcarcinom begrenzt, sondern Haut schützt auch im hohen Grade gegen Mammageschwülste.

4. Artspezifizität der Resistenz nach Resorption von normalen Geweben.

Genau auf dieselbe Weise, wie Injektion von Tumorgeweben fremder Tierarten gegen nachfolgende Impfung mit Mäusecarcinom oder -sarkom keinen deutlichen Schutz leistet, verhält sich auch normales Gewebe fremder Tierarten. Resistenz ist nur mit normalen Geweben derselben Tierart zu erhalten; Mäuse können nicht durch Vorbehandlung mit normalen Geweben von der Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen geschützt werden. Die Unterschiede, die durch das Ueberleben und Wachstum lebender Zellen als Indikator gemessen

Fig. 32. Resistenz gegen Impfung mit Plattenepithelkrebs nach Vorbehandlung mit normalen Mäusegeweben. Größere Schutzwirkung nach Vorbehandlung mit Haut als mit normaler Mamma, obwohl die doppelte Menge von Mamma injiziert worden war.

1—15, normale Mäuse, Kontrollen.

16—29, Mäuse, die mit 0,10 ccm Emulsion von Mäusemamma 20 Tage vor der Impfung unter die Rückenhaut injiziert worden waren.

30—37, Mäuse, mit 0,05 ccm Hautemulsion von Mäuseembryonen 20 Tage vor der Impfung subkutan auf dem Rücken inokuliert.

} Sämtliche Mäuse am 28. Okt. 1907 mit 0,02 g von Plattenepithelkrebs (Tumor 32) in die rechte Axilla geimpft. Erste Chartierung 10 Tage später. (Exp. 32/14 F.)

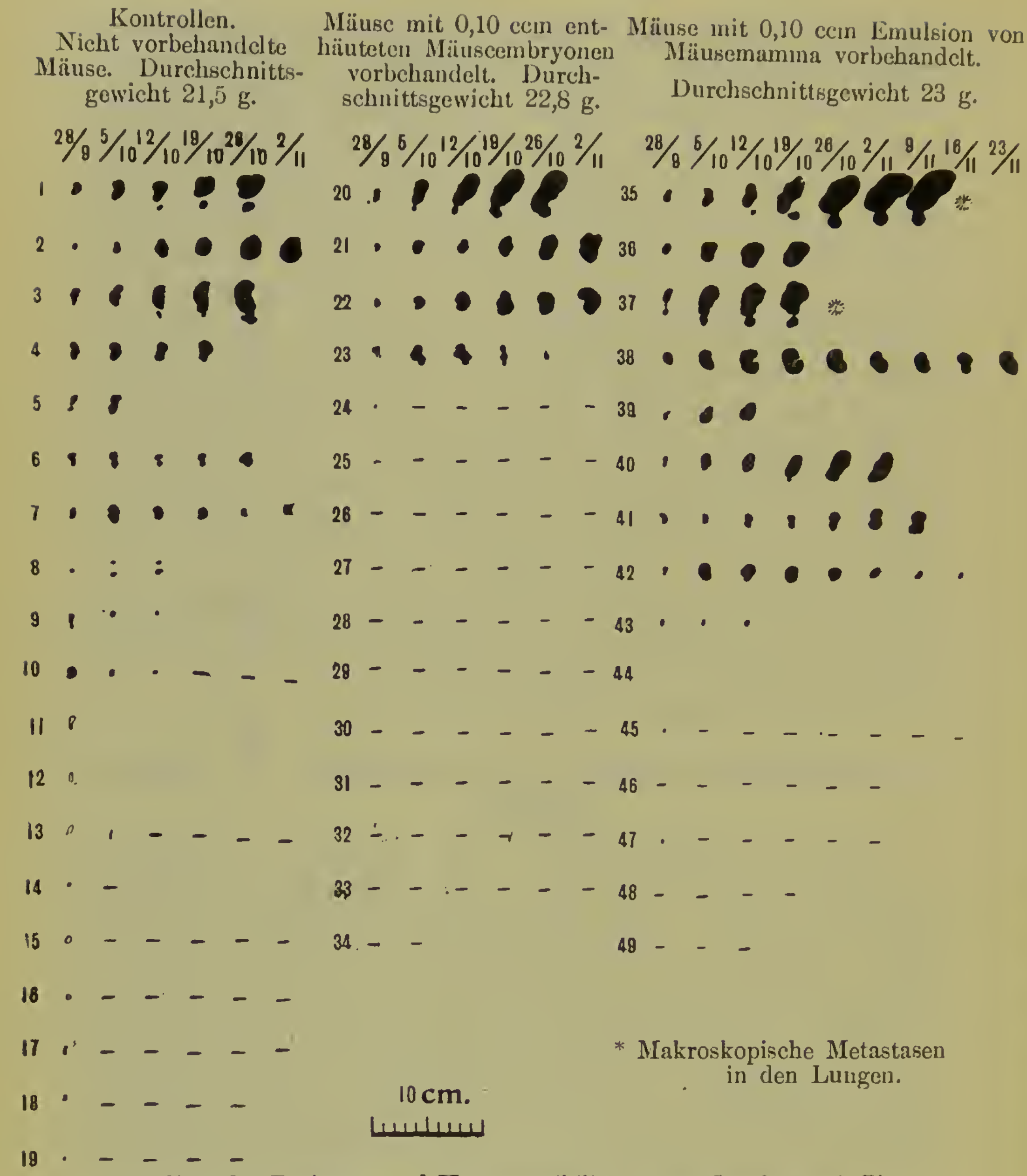


Fig. 33. Resistenz und Hypersensibilität gegen Impfung mit Plattenepithelkrebs nach Vorbehandlung mit normalen Mäusegeweben.

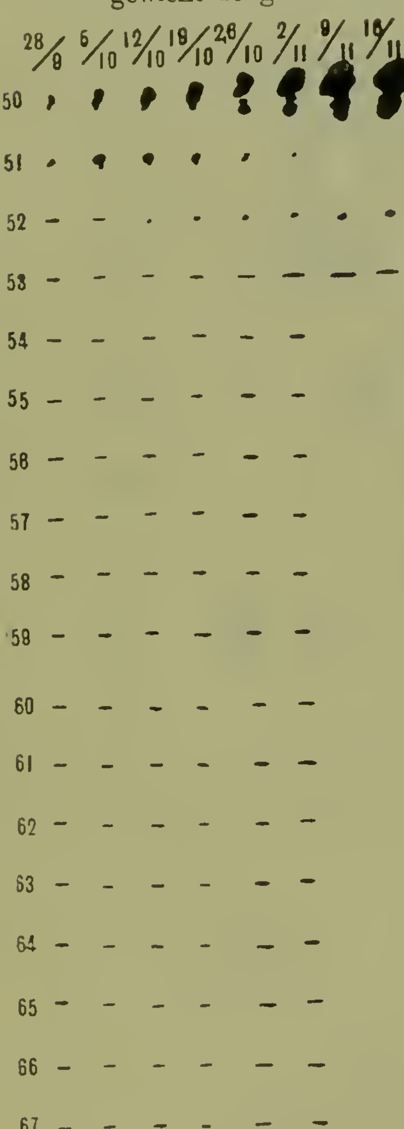
1—19, normale Mäuse, Kontrollen.

20—34, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von enthäuteten Mäuseembryonen 15 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

35—49, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von Mäusemamma 16 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

50—67, Mäuse, mit 0,05 ccm Emulsion von Mäuseembryohaut 15 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

Sämtliche Mäuse am 18. Sept. 1907 mit 0,02 g Plattenepithelkrebs in die rechte Axilla inokuliert. Erste Chartierung 10 Tage später. (Exp. 32/16 D.)



werden können, sind so fein, daß z. B. der Unterschied zwischen der Haut von Mäuse- und Rattenembryonen klar zutage tritt durch komplette Verhinderung des Wachstums resp. gänzliche Abwesenheit jeder Schutzwirkung. Fig. 35 zeigt einen Versuch, in welchem die Empfänglichkeit von 6 Reihen von Mäusen, die mit verschiedenen einzelnen Mäuse- und Rattengeweben vorbehandelt worden sind, mit der Empfänglichkeit normaler Mäuse (die erste Reihe, 1—15) für gleichzeitige Impfung mit Plattenepithelkrebs und Mammakrebs verglichen worden sind. Die immunisierenden Einspritzungen waren 18 Tage vorher subkutan am Rücken gemacht. Der Tumor wurde gleichzeitig in beide Axillengegenden, und zwar der Plattenepithelkrebs rechts, der Mammakrebs links, injiziert. Der Gegensatz zwischen den mit Mäuse- resp. Rattenhaut injizierten Reihen (4. resp. 7. Reihe) ist sehr frappant. Der Einfluß der Mammainjektion ist in diesem Versuch nicht so klar. Das Wachstum des Mammakrebses (schwarz) ist gewiß mehr als das des Plattenepithelkrebses (schraffiert) gehemmt worden; aber Rattenmamma scheint noch mehr wirksam; dieser letzte Effekt ist aber inkonstant und in diesem Versuch wahrscheinlich nur zufällig. Die mit Emulsion von enthäuteten Mäuseembryonen vorbehandelten Tiere waren nur wenig geschützt, während die entsprechende mit Rattenembryoemulsion inokulierte Reihe sogar statt erhöhter Resistenz an-

Kontrollen.
Nicht vorbehandelte Mäuse.
Durchschnittsgewicht 11,4 g.

6/8 12/8 20/8 9/9 26/9

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21

Mäuse mit 0,10 ccm Emulsion enthäutete Mäuseembryonen vorbehandelt.

Durchschnittsgewicht 11,1 g.

6/8 12/8 20/8 9/9 26/9

22 23 24 25 26 27 28 29 30

Mäuse mit 0,10 ccm Hautemulsion von Mäuseembryonen vorbehandelt. Durchschnittsgewicht 12,1 g.

6/8 12/8 20/8 9/9 26/9

31 32 33 34 35 36 37 38 39

* Makroskopische Metastasen in den Lungen.

10cm.

Fig. 34. Resistenz und Hypersensibilität gegen Impfung mit Plattenepithelkrebs nach Vorbehandlung mit normalen Mäusegeweben.

1—21, normale Mäuse, Kontrollen.
22—30, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von enthäuteten Mäuseembryonen 30 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.
31—39, Mäuse, mit 0,10 ccm Hautemulsion von Mäuseembryonen 30 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

Sämtliche Mäuse am 27. Juli 1907 mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs in die rechte Axilla geimpft. Erste Chartierung 10 Tage später. (Exp. 32/13 F.)

scheinend Hypersensibilität aufwies. Diese Beobachtung, daß die Injektion normaler Gewebe nicht immer ungünstige Wachstumsbedingungen für Tumoren zur Folge zu haben braucht, sondern gelegentlich auch solche, die das Wachstum fördern, ist von großer Bedeutung. Fig. 33 und 34 illustrieren dies Verhältnis für den Plattenepithelkrebs nach Vorbehandlung mit Mäusemamma und enthäuteten Mäuseembryonen. Fig. 36 zeigt eine ähnliche Versuchsserie mit demselben Plattenepithelkrebs (rechts) und einem Spindelzellensarkom (links). Ein relativ spärliches Wachstum fand sowohl in den normalen Mäusen der Kontrolle statt, als auch in allen mit Mäuse- und Rattengeweben vorbehandelten Tieren, mit der Ausnahme von den Mäusen 40—46, die 6 Wochen vorher mit Rattenmamma injiziert worden waren. Die auch mit Rattenmamma, aber nur 16 Tage vor der Tumorinjektion, vorbehandelten Mäuse 47—50 in der angrenzenden Reihe zeigen dieses Phänomen nicht. Das zwischen beiden Injektionen angewandte Zeitintervall scheint diesem Versuch nach bedeutungsvoll für die Entscheidung, ob Resistenzsteigerung oder Hypersensibilität folgen wird. Hypersensibilität scheint ein weniger spezifisches Phänomen als Resistenzsteigerung zu sein. Sie scheint durch sehr verschiedene Substanzen verursacht zu werden und sowohl bei Einführung von Geweben aus fremden Tierarten als von Geweben derselben Art. Flexner und Jobling[1]) haben konstant Hypersensibilität für ihre Rattengeschwülste durch Vorbehandlung mit erhitztem Tumormaterial hervorrufen können.

Dieses Phänomen gibt interessante Fingerzeige zur Herbeiführung konstitutioneller, das Wachstum eines Tumors befördernder Bedingungen und dadurch möglicherweise die Verbreitung begünstigender Faktoren (cf. Mäuse 22, 24 und 29 in Fig. 34).

Aus den Resultaten der Kreuzversuche mit den Normal- und krebsigen Geweben derselben und fremder Tierarten haben wir die Schlußfolgerungen gezogen: 1) daß die krebsigen Gewebe einer Tierart ihre Arteigenschaften beibehalten, und 2) daß innerhalb einer Species die verschiedenen Geschwülste die biochemischen Eigenschaften ihres Muttergewebes nicht wesentlich verändern. Das Aufstellen des Begriffes der Pan-

1) Proc. Soc. for exp. Biology and Med. New York, June 22, 1907.



Fig. 35.
Figurenerklärung s. p. 517.

Mäuseembryohaut 0,05 ccm am Rücken.
Durchschnittsgewicht 10,5 g.

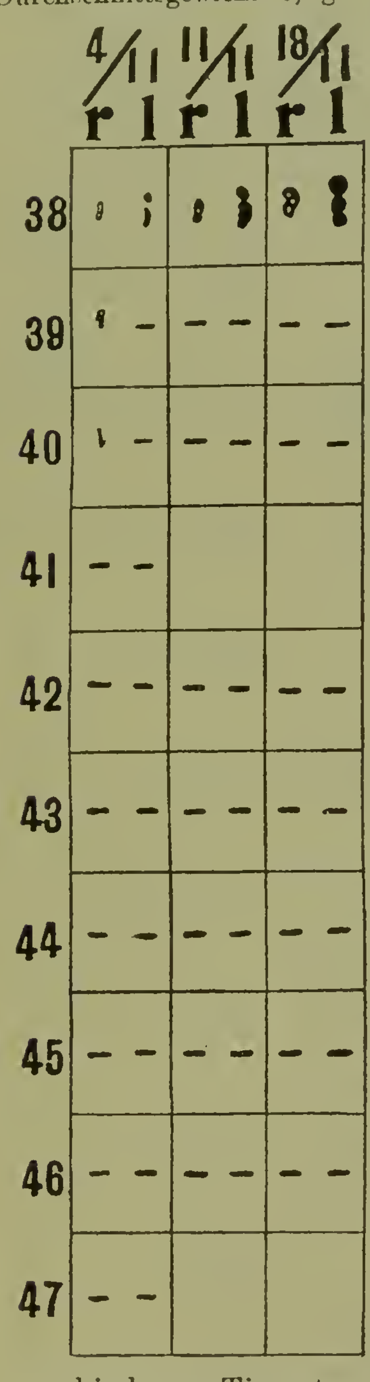


Fig. 35. Resistenz gegen gleichzeitige Impfung mit Plattenepithel- und Mammakrebs nach Vorbehandlung mit normalen Mäusegeweben, aber nicht nach Vorbehandlung mit normalen Rattengeweben.

1—15, normale Mäuse, Kontrollen.

16—47, mit normalen Mäusegeweben vorbehandelte Mäuse.

16—23, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von enthäuteten Mäuseembryonen 15 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

24—37, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von Mäusemamma 15 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken vorbehandelt.

38—47, Mäuse, mit 0,05 ccm Hautemulsion von Mäuseembryonen 15 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken vorbehandelt.

48—75, mit normalen Rattengeweben vorbehandelte Mäuse.

48—57, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von enthäuteten Rattenembryonen 16 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

58—65, Mäuse, mit 0,10 ccm Emulsion von Rattenmamma 16 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken vorbehandelt.

66—75, Mäuse, mit 0,10 ccm Hautemulsion von Rattenembryonen 16 Tage vor der Impfung subkutan am Rücken injiziert.

Sämtliche Mäuse am 24. Okt. 1907 mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs (Tumor 32) in die rechte Axilla und gleichzeitig mit 0,025 ccm Emulsion von Mammakrebs (Tumor 46) in die linke Axilla geimpft. Im Protokoll sind die sich entwickelnden Plattenepithelkrebse in der rechten Axilla (r.) schraffiert, und die Mammakrebse in der linken Axilla (l.) vollschwarz dargestellt. Erste Chartierung 11 Tage nach der Impfung. (Exp. 32/18 E; 46/10 D.)

Fortsetzung siehe p. 518.

immunität ließe wohl die Möglichkeit eines gemeinsamen Virus für verschiedene Geschwülste derselben Tierart zu, und selbst für Geschwülste verschiedener Tierarten, wenn man die Versuche Schönes und Lewins, die Resistenz durch Vorimpfung mit Krebs artfremder Tiere erzeugt haben wollen, gelten ließe. Dagegen schließen unsere Versuchsanordnungen mit Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse diese Möglichkeit vollständig aus.



Fig. 35. Figurenerklärung siehe p. 517.

5. Reinokulation positiver Tiere.

Die Frage drängt sich natürlich auf, welchen Effekt ein Tumor auf das Tier ausübt. Schützt eine gelungene Inokulation gegen eine zweite Impfung? Oder ändert das Vorhandensein eines Tumors das Tier in entgegengesetzter Richtung und begünstigt es die Metastasenbildung?

Im Jahre 1904 haben wir angegeben, daß Mäuse mit wachsenden Tumoren mit positivem Resultat reinokuliert werden können. Mit Rücksicht auf das Vorkommen von Metastasen im menschlichen Krebs scheinen uns diese der artifiziellen Reproduktion von Metastasen ähnlichen positiven Resultate von Bedeutung. Ehrlich gab im Jahre 1905 an, daß Mäuse mit schnell wachsenden Tumoren nicht reinokuliert werden können, und er erklärte dies durch die Annahme, daß der erste Tumor die Nährstoffe für sich beansprucht, so daß die zweite Inokulation nicht genügend ernährt werden kann. Auf dieser Beobachtung hat, wie bekannt, Ehrlich die Hypothese der athreptischen Immunität aufgebaut, für welche er in dem Verhalten der Metastasen in transplantierten Tumoren eine weitere Stütze zu finden glaubte.

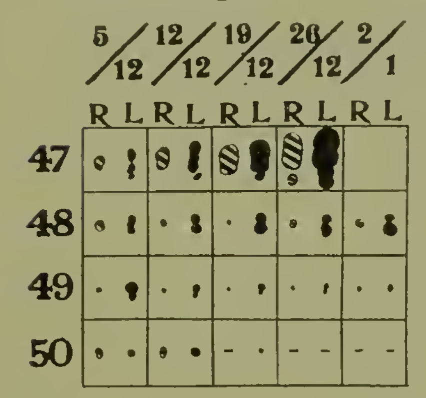
Die Bildung von Metastasen kommt in den verschiedenen Tumorstämmen mit wechselnder Häufigkeit vor. Während in einem der sehr langsam wachsenden Tumoren (Tumor 27) trotz durch mehr als 2 Jahre darauf gerichteter Aufmerksamkeit noch keine makroskopischen Metastasen gefunden worden sind, zeigen unsere schnell wachsenden Geschwülste, z. B. der Plattenepithelkrebs, das Spindelzellensarkom und das Jensensche Carcinom, die wir für unsere Immunitätsversuche bevorzugt haben, solche sehr häufig. In diesen Tumorstämmen hängt die Häufigkeit der Metastasen und ihre Größe hauptsächlich von der Lebensdauer des tumortragenden Tieres ab, und abgesehen von diesem Faktor ist kein konstantes Verhältnis zu der Schnelligkeit des Wachstums nachzuweisen. Die von den Metastasen erreichte Größe ist von denselben Bedingungen abhängig wie die der transplantierten Tumoren; insbesondere ist hierfür die Anfangsdosis von hoher Bedeutung. Es ist selbstverständlich, daß der arterielle Embolus in den Lungengefäßen, von dem eine Metastase ihren Ursprung nimmt, viel kleiner ist als irgend eine für Transplantation gebrauchte



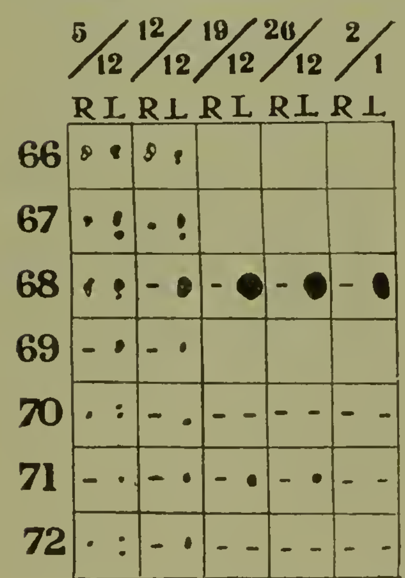
Fig. 36. Figurenerklärung siehe p. 521.

Mit Rattenmamma vorbehandelte Mäuse. 0,05 ccm am Rücken. 9. Nov. 1907.

Durchschnittsgewicht 16,9 g.



Mit Haut von Rattenembryonen vorbehandelte Mäuse. 0,05 ccm am Rücken. 9. Nov. 1907.
Durchschnittsgewicht 15 g.



Mit Haut von Rattenembryonen vorbehandelte Mäuse. 0,1 ccm am Rücken. 8. Okt. 1907.
Durchschnittsgewicht 17,33 g.

Fig. 36. Aehnlicher Versuch wie derjenige in Fig. 35; zeigt Resistenz gegen Plattenepithelkrebs und Spindelzellensarkom nach Vorbehandlung mit normalen Mäusegeweben und das Fehlen jeder Resistenz nach Vorbehandlung mit Rattengeweben. In einigen Fällen (z. B. mit Mamma) scheinen die Rattengewebe sogar Hypersensibilität hervorzurufen. Sämtliche Mäuse am 25. Nov. 1907 mit 0,01 g Plattenepithelkrebs (schraffiert) in der rechten Axilla (r.) und gleichzeitig mit 0,01 g Spindelzellensarkom (vollschwarz) in der linken Axilla geimpft. (Exp. 32/18 F; 37/15 G.)

Die detailierte Beschreibung der Vorbehandlung ist über jeder Reihe angegeben.

Dosis. Hieraus läßt sich folgern, daß, wenn der transplantierte Tumor von einer großen Geschwulstgabe ausgeht und schnell wächst, der Tod des Tieres eintritt, bevor die Metastasen makroskopische Größe erreicht haben. Das Hindernis für das Wachstum, das die Wände der Lungenarterien darbieten, und die anfängliche Schwierigkeit der Vaskularisation — von irgendwelchem Einfluß des ersten Tumors auf die Konstitution abgesehen — mögen auch die Dauer des Wachstums der Emboli verlängern.

Wir wenden uns jetzt zu der artifiziellen Nachahmung der Metastasenbildung durch Reinokulation von Tumoren tragenden Mäusen die wir der Kürze halber „positive" Mäuse nennen werden. Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht der Resultate homologer Reinokulationen für ein hämorrhagisches Carcinom (Tumor 50), ein Adenocarcinom der Mamma (Tumor 27), das Jensensche Mäusecarcinom, den Plattenepithelkrebs (Tumor 32), Tworts Carcinom und Jensens Rattensarkom. Diese 6 Tumoren sind als Paradigmata verschiedenartiger, sowohl rasch als langsam wachsender Tumoren gewählt worden, und ihre durchschnittliche Angangsziffer in normalen Tieren variiert zwischen 27 und 91 Proz.

Allgemeine Resultate von Reinokulation „positiver" Mäuse und Ratten.

		Anzahl inokulierter Tiere	Anzahl erfolgreicher Impfungen	Impfausbeute in Prozenten
Hämorrhagisches Mäusecarcinom (Tumor 50)	Reinokulation „positiver" Tiere	38	25	66
	Kontrollen	82	22	27
Adenocarcinom der Mamma von Maus (Tumor 27)	Reinokulation „positiver" Tiere	39	23	59
	Kontrollen	64	28	44
Jensensches Mäusecarcinom	Reinokulation „positiver" Tiere	68	26	39
	Kontrollen	111	55	50
Plattenepithelkrebs der Maus (Tumor 32)	Reinokulation „positiver" Tiere	41	23	56
	Kontrollen	113	64	56
Carcinoma solidum d. Mamma v. Maus (Tworts Tumor)	Reinokulation „positiver" Tiere	39	26	66
	Kontrollen	38	26	66
Jensens Rattensarkom	Reinokulation „positiver" Tiere	50	25	50
	Kontrollen	83	76	91

Es geht aus der Tabelle hervor, daß von den Zahlen einige unsere Angaben von 1904 sowie die von Gierke bestätigen, andere das von Ehrlich beschriebene Phänomen illustrieren. Die Frage ist nur, ob wir den negativen oder den positiven Resultaten die größte Bedeutung zuschreiben sollten, oder ob es möglich ist, die anscheinenden Widersprüche in Einklang zu bringen.

Die Zahlen zeigen, daß die Resultate der Reinokulation nicht jene sind, die wir, der Annahme nach, daß positive Tiere nur unveränderte, empfängliche, durch die Tumorimpfung ausgewählte Individuen sind, erwarten würden. Wenn dies der Fall wäre, müßte die zweite Inokulation in „positiven" Mäusen in einer viel höheren Prozentzahl als in den Kontrollen angehen. Dies ist auch der Fall mit Tumor 27 und 50, für welche die zweite Impfung positiver Tiere in 59 resp. 66 Proz. angeht, während die Kontrolle 44 resp. 27 Proz. zeigt. Für den Plattenepithelkrebs (Tumor 32) und Tworts Carcinom geben die Reinokulationen und die Kontrollen dasselbe Resultat, nämlich 56 resp. 66 Proz. In dem Jensenschen Mäusecarcinom und Rattensarkom ist die Reinokulation weniger erfolgreich als die erste Impfung, nämlich 39 resp. 50 Proz., während die Kontrolle 50 resp. 91 Proz. positive Resultate aufweist.

Wir haben also in diesen Reihen von Versuchen auf der einen Seite die von zwei von uns in dem „First Scientific Report" 1904 und später von Hertwig, Gierke und Borrel beschriebenen Phänomene, und auf der anderen Seite bei den zwei zuletzt erwähnten Geschwülsten das von Ehrlich 1905 als „athreptische Immunität" beschriebene Phänomen.

Da die erstgenannten Tumoren (Tumor 27 und 50) ziemlich langsam wachsende Geschwülste sind, während Jensens Maus- und Rattentumor und der Plattenepithelkrebs (Tumor 32) ein rapides Wachstum zeigen, scheinen diese Zahlen die Richtigkeit der Ehrlichschen Beobachtungen in bezug auf schnell wachsende Tumoren zu bestätigen. Die Tatsache, daß selbst in Serien mit den am schnellsten wachsenden Geschwülsten eine zweite Impfung erfolgreich verlaufen kann, zeigt jedoch, daß das negative Resultat der Reinokulation kaum durch die Wachstumsschnelligkeit des ersten Tumors bedingt sein kann,

10 cm.

Fig. 37. Reinokulation von „Klein-Dosis-Positiven“ von Plattenepithelkrebs mit kleinen und großen Dosen desselben Tumors.

1—12, Mäuse, am 22. Febr. 1908 mit 0,02 g von Plattenepithelkrebs in die rechte Axilla inokuliert. (Exp. 32/13 J.) } Reinokuliert am 5. März 1908 mit Emulsion desselben Plattenepithelkrebses in die linke Axilla. 1—6 Dosis 0,025 ccm, 7—12 Dosis 0,15 ccm.

13—28, normale Mäuse, als Kontrollen für die Reinokulation; geimpft am 5. März 1908 mit Emulsion desselben Tumors in die linke Axilla. (Exp. 32/24 D.) } 13—22 Dosis 0,025 ccm, Kontrollen für die erste Hälfte des Exp. (1—6). 23—28, Dosis 0,15 ccm, Kontrollen der zweiten Hälfte.

und macht eine nähere Analyse der Bedingungen, unter welchen eine zweite Impfung in verschiedenen Tumorstämmen positiv oder negativ verläuft, notwendig. Für diesen Zweck sind in Prozenten angegebene Durchschnittsresultate nicht ausreichend.

Eine graphische Darstellung des Wachstums jedes einzelnen Tumors von Versuchen, in welchen die Tumorgaben der ersten und zweiten Impfung erheblich verschieden sind, und in welchen die zweite Impfung nicht mehr oder sogar noch weniger. erfolgreich als in den Kontrollen ist, eignet sich dazu, die anscheinenden Widersprüche aufzuklären.

Die histologische Untersuchung der Impfstelle lehrt, daß, wenn nicht die Impfdosis sehr klein ist, nach der Inokulation

Exp. 32/23. Erste Impfung mit kleinen Dosen 0,025 ccm.
Durchschnittsgewicht bei der Reinokulation 16,0 g.

Fig. 38. Figurenerklärung siehe p. 527.

immer etwas Resorption von Tumorgewebe stattfinden muß. Jensen hat auch 1903 diese Tatsache berücksichtigt. Wie oben hervorgehoben (p. 397 u. ff.), kann, wenn die resorbierte Menge erheblich ist, die Empfänglichkeit des Tieres für eine

Erste Impfung mit großen Dosen 0,15 ccm.
Durchschnittsgewicht bei der Reinokulation 14,6 g.

Normale Mäuse. Kontrollen für die Reinokulation. (Exp. 32/26 B.)
Durchschnittsgewicht 11,6 g.



Fig. 38. Resultat der Reinokulation von „Klein-“ und „Groß-Dosis-Positiven“ von Plattenepithelkrebs (Tumor 32) mit kleinen Dosen desselben Tumors.

Mäuse 1—14 und 15—28 am 5. März 1908 mit 0,025 resp. 0,15 ccm Plattenepithelkrebs inokuliert. (Exp. 32/23 E.)
29—40 sind normale Mäuse, Kontrollen.

Sämtliche Mäuse sind am 19. März 1908 (d. h. 14 Tage später) mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs in die linke Axilla inokuliert worden. (Exp. 32/26 B.)

spätere zweite Impfung herabgesetzt und sogar das Wachstum des von der ersten Impfung sich entwickelnden Tumors beeinflußt werden. Auf diese Weise erklären wir die Zurückbildung kleiner Geschwülste nach einem vorübergehenden Wachstum. Wie dort betont worden ist, kann natürliche Resistenz in dem Sinne eines natürlich vorhandenen hemmenden Mechanismus kaum das in Frage stehende Phänomen erklären.

Fig. 37 zeigt das Protokoll eines Versuches, in welchem die Tiere einer mit kleinen Dosen angelegten Impfserie nachträglich mit kleinen und großen Dosen reinokuliert worden sind. Die erste Impfung (0,025 ccm von Plattenepithelkrebs [Tumor 32] in die rechte Axilla) ergab 9 kontinuierlich wachsende Tumoren. Diese 9 „Positiven“ wurden in zwei Gruppen verteilt. Den 4 ersten wurde 12 Tage nach der ersten Inokulation dieselbe Dosis (0,025 ccm) desselben Tumorstammes in die linke Axilla injiziert. Die 5 anderen (7—11) bekamen die 6-fache Dosis (0,15 ccm) ebenfalls in die linke Axilla, gleichzeitig wurden normale Mäuse als Kontrolle mit denselben kleinen (13—22) und großen (23—28) Dosen geimpft. In der ersten Gruppe gingen 3 Tumoren an, die jedoch etwas langsamer als die entsprechenden Kontrollen wuchsen, in der zweiten Gruppe gingen 4 Tumoren an, die in keiner Weise hinter den entsprechenden Kontrolltumoren in ihrem Wachstum zurückblieben. Die gegen kleine Dosen bestehende Wachstumshemmung scheint somit durch größere Dosen überwunden werden zu können, wie wir schon früher für die Blutimmunität gezeigt haben. Die in diesem Versuch erscheinende Wachstumshemmung kann jedenfalls nicht durch Erschöpfung der vorhandenen Nährstoffe durch den primären Tumor erklärt werden, und das Wachstum der sekundären Tumoren der zweiten Gruppe, das demjenigen der entsprechenden Kontrolltumoren gleichkommt, trotz des gleichzeitigen Wachstums des primären Tumors, spricht direkt gegen eine solche Erschöpfung.

Andere Versuche, in welchen die erste Impfung in zwei Gruppen mit großen und kleinen Dosen, die zweite Inokulation nur mit kleinen Dosen gemacht worden ist, sind auch sehr wohl geeignet, auf diese Phänomene Licht zu

werfen. Fig. 38 zeigt die Anordnung und das Resultat eines solchen Versuches. In der ersten Reihe, in welcher die erste Impfung mit kleinen Dosen gemacht worden ist, entwickeln sich in 9 „Positiven“ („Klein-Dosis-Positiven“) 5 Tumoren, in der zweiten Reihe, in welcher die erste Impfung mit der 6-fachen Dosis stattgefunden hat, sind in 9 Positiven („Groß-Dosis-Positiven“) 3 Tumoren, deren Wachstum hinter denen der ersten Reihe erheblich zurückbleibt. Die Größe und Wachstumsgeschwindigkeit der primären Tumoren sind in beiden Reihen im wesentlichen dieselben; der Unterschied zwischen den beiden Reihen besteht nur in der primären Impfdosis. Jede Reihe in sich illustriert die Phänomene, auf welche Ehrlich und wir verschiedenen Wert gelegt haben, resp. den negativen und den positiven Ausfall der Wiederimpfungen. Es kann nicht bezweifelt werden, daß in der zweiten Reihe mehr Tumorbrei zur Resorption gekommen ist, als in der ersten Reihe, und es ist durchaus natürlich, hierin die Erklärung der Unterschiede in der Resistenz beider Reihen zu erblicken. Auf dieselbe Weise dürfen vielleicht die Unterschiede zwischen den einzelnen Mäusen derselben Reihe erklärt werden. Die größten Tumoren der sekundären Impfung entwickeln sich überall in den Mäusen mit den größten primären Tumoren, wie es auch in einigen von Ehrlich nach Abschluß dieser Arbeit veröffentlichten Versuchsprotokollen [1]) der Fall ist. Umgekehrt zeigen die die langsamer wachsenden Tumoren tragenden Tiere einen größeren Resistenzgrad. Da die Anfangsdosis für jede Maus derselben Reihe dieselbe war, läßt sich denken, daß in den die kleinen Tumoren tragenden Tieren eine größere Menge von Geschwulstmaterial resorbiert worden ist, als in jenen mit großen Tumoren.

Eine simultane Immunisierung durch Resorption von Geschwulstmaterial bei der ersten Impfung ist die natürlichste Erklärung dieser Phänomene, während die athreptische Erklärung für unsere Beobachtungen gar nicht zutrifft.

Versuche mit Jensens Rattensarkom zeigen diese Phänomene mit diagrammatischer Klarheit. Fig. 39 zeigt das

1) Die Genese des Carcinoms. Verh. d. deutsch. path. Gesellsch. Kiel 1908.

Resultat bei Tieren, welche von großen resp. kleinen Dosen entwickelte Tumoren tragen, und die wiederum mit großen und kleinen Dosen reinokuliert wurden. Von 5 Ratten, die mit kleinen Dosen vorgeimpft waren („Klein-Dosis-Positive", zweite Gruppe, 7—11) entwickelten 4 nach Reinokulation mit großen Dosen gut wachsende Tumoren. Die einzige Ratte, in welcher die zweite Impfung negativ verlief, war die, in welcher der erste Tumor schlecht wuchs und schließlich resorbiert wurde. In 6 von denselben „Klein-Dosis-Positiven" (dritte Gruppe 12—17), in welchen die Nachimpfung mit kleinen Dosen stattfand, entwickelten sich nur zwei Tumoren. Hier wieder kann die vorhandene Resistenz durch große Dosen überwunden werden, und ist die zweite Impfung nur in den die größten Tumoren tragenden Ratten erfolgreich. Simultane Immunisierung durch die erste Impfung ist die am nächsten liegende Erklärung, während natürliche Resistenz ebensowenig wie Athrepsie ausreicht. Die erste Gruppe des Versuches (1—6) zeigt das Resultat von Reinokulation von 6 „Groß-Dosis-Positiven" mit großen Dosen. Hier wiederum ist die einzige Ratte, in welcher der Tumor nicht wächst, diejenige, in welcher der erste Tumor schlecht wuchs. Eine natürliche Resistenz von Anfang an scheint nicht in Frage zu kommen, da der erste Tumor durch 5 Wochen kontinuierlich, obwohl langsam, gewachsen war. Die anderen Ratten trugen so große Tumoren, daß sie alle innerhalb 3 Wochen nach der zweiten Impfung starben, und dadurch das schließliche Resultat der zweiten Impfung unentschieden blieb.

Wenn Tumoren eine solche Größe erreicht haben, daß die Grenze der Assimilationsfähigkeit und des Gaswechsels des Tieres, wie Cramers Versuche zeigen, erreicht ist, ist die zweite Impfung entweder negativ oder ergibt kleine stationäre Tumoren. Dies Resultat ist gleichwertig mit dem in kranken oder kachektischen Mäusen erhaltenen. Für diese Fälle mag wohl der Ausdruck „Athrepsie" für zutreffend gelten, aber in den Experimenten, wo durch exakt abgestufte Dosierung das frühzeitige Erschöpfen der Tiere vermieden wurde, treten in dem negativen Verlauf der zweiten Impfungen andere Phänomene zutage, die nur von anderen Betrachtungen aus zu erklären sind.

Durchschnittsgewicht bei der Reinokulation 91 g.
„Groß-Dosis-Positive“ mit großen Dosen reinokuliert.

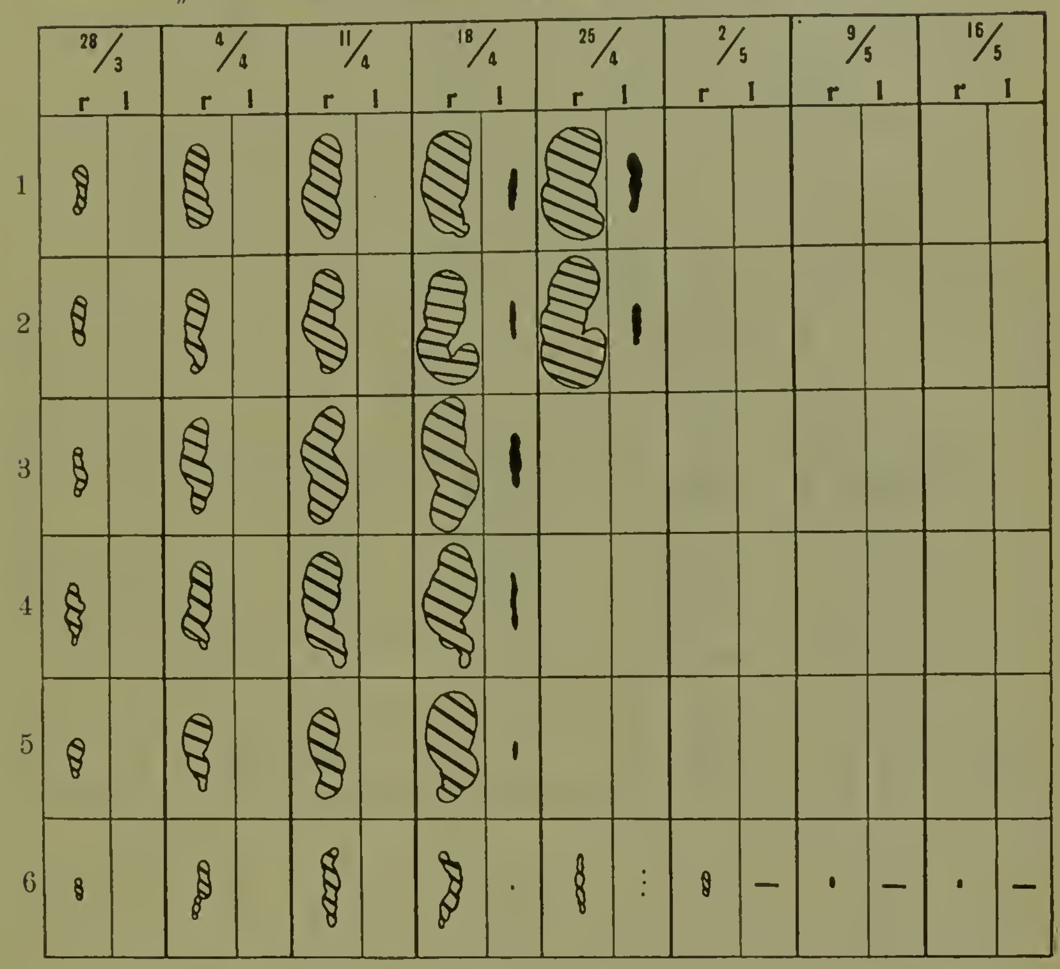


Fig. 39. Resultat der Reinokulation von „Groß“- und „Klein-Dosis-Positiven“ von Jensens Rattensarkom mit großen und kleinen Dosen desselben Tumors. Wenn „Groß-Dosis-Positive“ mit großen Dosen reinokuliert werden, wachsen die sekundären Tumoren nicht so schnell wie die Kontrollen; der größte sekundäre Tumor ist aber in der Ratte, die den größten primären Tumor trägt, zu finden. Wenn „Klein-Dosis-Positive“ mit großen Dosen reinokuliert sind, wachsen die sich entwickelnden sekundären Tumoren ungefähr ebenso schnell wie die Kontrollen, und hier wiederum am besten in den Ratten, die die größten primären Tumoren tragen. Wenn „Klein-Dosis-Positive“ mit kleinen Dosen reinokuliert werden, entwickeln sich sekundäre Tumoren nur in Ratten mit den größten primären Tumoren.

In Ratten 1—6 ist die erste Impfung am 18. März 1908 mit 0,2 ccm von Jensens Rattensarkom vorgenommen, in Ratten 7—11 und 12—17 die erste Impfung nur mit 0,01 g desselben Tumors. (Exp. J.R.S/10 A.) Die Ratten 1—6 und 7—11 wurden am 7. April 1908 mit großen Dosen (0,2 ccm Emulsion), die Ratten 12—17 mit kleinen Dosen (0,01 g) von Jensens Rattensarkom in die linke Axilla reinokuliert. Als Kontrollen für die Reinokulation dienen die Ratten 18—25 und 26—33, resp. 18—25 für die großen Dosen (0,2 ccm) und 26—33 für die kleinen Dosen (0,01 g). (Exp. J.R.S/11 A.)

„Klein-Dosis-Positive“ mit großen Dosen reinokuliert.

7 8 9 10 11

Fig. 39. Fortsetzung. Figurenerklärung s. p. 531.

Ein negatives Resultat bei Reinokulation ist, aller Wahrscheinlichkeit nach, durch sekundäre auf Tumorresorption folgende Veränderungen in den Tieren bedingt, und folglich von dem Vorhandensein eines wachsenden Tumors unabhängig. Die beobachteten quantitativen Beziehungen zwischen der ein-

„Klein-Dosis-Positive" mit kleinen Dosen reinokuliert.

12 13 14 15 16 17

Fig. 39. Fortsetzung. Figurenerklärung s. p. 531.

geführten Menge von Geschwulstgewebe und dem Grad der erhaltenen Resistenz ebensowohl in mit Tumoren behafteten wie auch in normalen Tieren demonstrieren, daß wir es hier mit einer aktiven Immunität zu tun haben.

Positive Reinokulation entspricht Metastasenbildung und

Durchschnittsgewicht 67,3 g.
Kontrollen für Reinokulation der Ratten 1—11 mit großen Dosen.

	18/4		25/4		2/5		9/5		16/5		23/5	
	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												

Fig. 39. Fortsetzung. Figurenerklärung s. p. 531.

Kontrollen für Reinokulation der Ratten 12—17 mit kleinen Dosen.

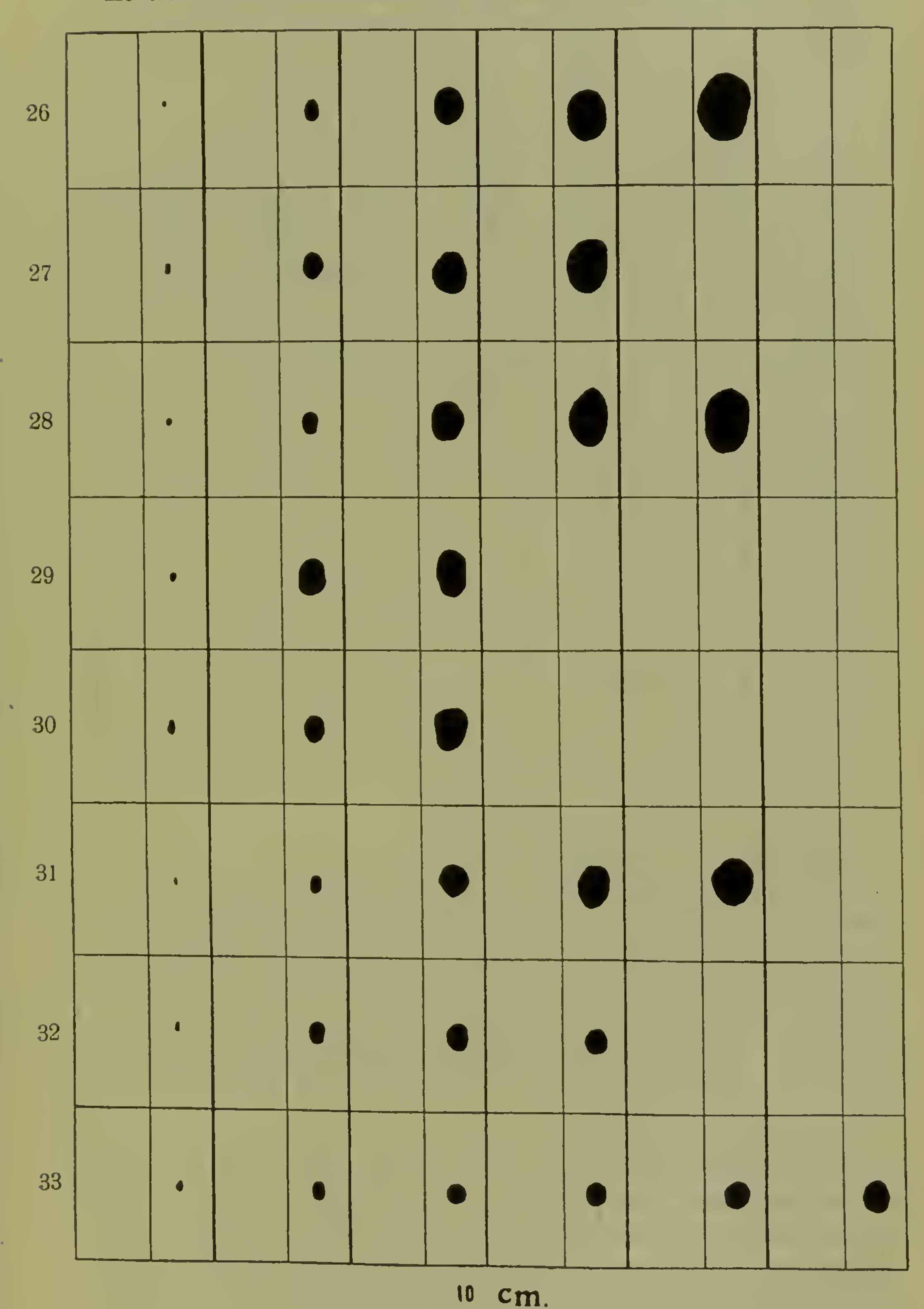


Fig. 39. Fortsetzung. Figurenerklärung s. p. 531.

Durchschnittsgewicht bei der Reinokulation 15 g.

	13/1		20/1		27/1		3/2		10/2		17/2		24/2	
	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l
1														
2														
3														
4								—		—		—		—
5								—		—	—	—	—	—
6														
7										—		—		—
8														

10 cm.

Fig. 40. Die Einschaltung einer immunisierenden Inokulation von 0,10 ccm Spontantumor ändert nicht die Empfänglichkeit positiver Mäuse für eine zweite Impfung mit demselben Tumor (Plattenepithelkrebs).

Mäuse 1—8 waren am 2. Jan. 1908 mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs (Tumor 32) in die rechte Axilla geimpft. (Exp. 32/22 B.) 13 Tage später erhielten sie 0,10 ccm Spontantumor subkutan am Rücken und noch 10 Tage später, am 25. Jan. 1908, wurden sie mit 0,025 ccm Plattenepithelkrebs in die linke Axilla reinokuliert. Gleichzeitig, am 25. Jan. 1908, wurden 15 normale Mäuse (9—23) mit derselben Dosis (0,025 ccm) desselben Materials in die linke Axilla als Kontrolle geimpft. (Exp. 32/23 B.)

ermöglicht experimentelles Arbeiten über die Mittel, wodurch diese verhindert werden kann. Wenn wir durch irgendwelche Mittel positive Reinokulation zu verhüten vermögen, in Fällen, in welchen sie gewöhnlicherweise gelingt, kann die Möglichkeit nicht abgewiesen werden, daß auch die Metastasenbildung in gleicher Weise unter Kontrolle gebracht werden kann.

Durchschnittsgewicht 17,6 g.

	3/2		10/2		17/2		24/2	
	r	l	r	l	r	l	r	l
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18				—		—		—
19				—		—		—
20				—		—		
21				—		—		
22				—		—		—
23		—		—				

10 cm.

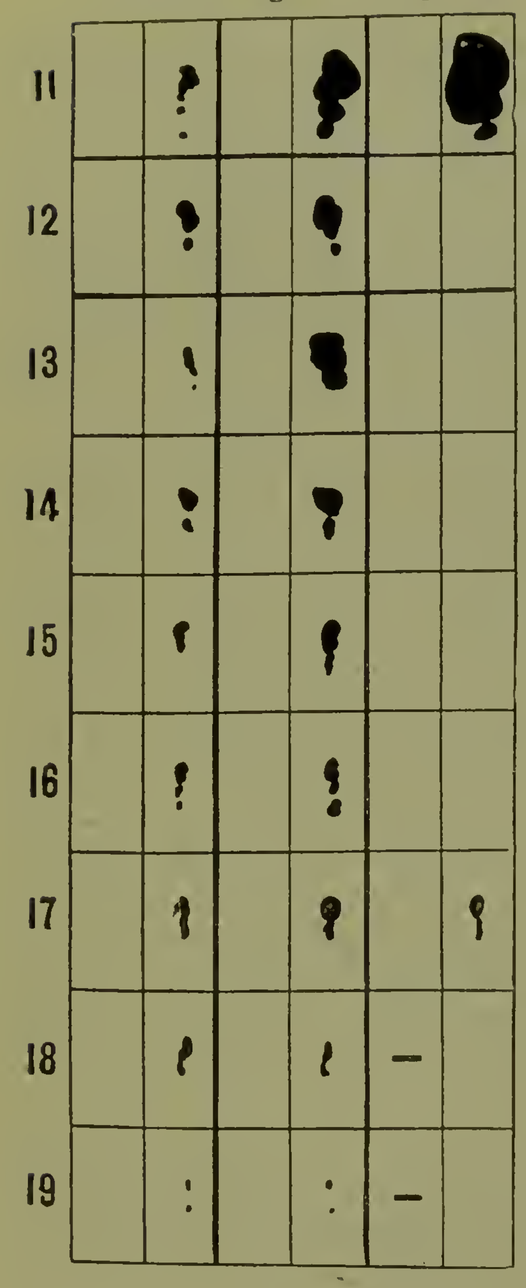
Es zeigen sich aber erhebliche Schwierigkeiten beim Versuch, durch dieselben Mittel, durch welche der Erfolg der ersten Inokulation verhütet werden kann, den Erfolg einer zweiten Impfung von positiven Tieren zu verhindern (Fig. 40). Schöne ist ähnlichen Schwierigkeiten begegnet, wenn er positive Tiere, denen die Tumoren durch Operation entfernt waren, zu immunisieren versuchte.

Dosierung und Zeitintervall sind auch hier Faktoren von großer Bedeutung, und diesbezügliche Untersuchungen sind noch im Gange. Die Kompliziertheit der Versuche allein macht es schwierig, die Resultate zu deuten und fordert zur Vorsicht auf. Bis jetzt zeigen unsere Versuche nur die Möglichkeit, Resistenz einzuschalten (siehe Fig. 41). Weiter zeigen sie, daß ein abnormales Resultat ab und zu erhalten wird, und eine Behandlung, die in normalen Individuen starke Resistenz herbeiführt, vermag in positiven

Durchschnittsgewicht 16,5 g.

	3/2		11/2		18/2		24/2		2/3		13/3	
	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l
1												
2												
3												
4										—		—
5			—		—		—		—		—	
6												
7												
8										—		—
9								—	—	—		—
10									—	—	—	—

Fig. 41. Figurenerklärung siehe p. 539.



Tieren gelegentlich eine relative Ueberempfänglichkeit hervorzurufen. Diese Beobachtung mahnt zur Vorsicht gegen frühzeitige Schlüsse.

Die genannten Tatsachen in bezug auf Geschwulstresistenz und Empfänglichkeit, soweit sie zur Zeit bekannt sind, stützen nicht die Theorie, daß die biologischen Charaktere maligner Geschwülste durch das Vorhandensein eines Infektionsstoffes oder Virus bedingt sind. Während in vielen Beziehungen Resistenz gegen Geschwulstimpfung als eine aktive Immunität angesehen werden muß, ist die wahre Natur dieser Veränderung noch nicht bewiesen worden. Die quantitativen Beziehungen zwischen Grad der Resistenz und Menge des resorbierten Gewebes machen es wahrscheinlich, daß aktive Substanzen in den Körperflüssigkeiten eine Rolle spielen könnten.

Es ist aber bis jetzt nicht gelungen, irgendwelche

Fig. 41. Resistenz gegen nachfolgende Impfung mit Plattenepithelkrebs (Tumor 32) scheint nach dem Erscheinen der primären Tumoren sich entwickeln zu können als Folge von Vorbehandlung mit Mäuseembryohaut, unmittelbar vor der ersten Impfung injiziert.

Mäuse 1—5, normale Mäuse.
Mäuse 6—10, mit Mäuseembryohaut 2 Tage vor der Impfung inokuliert.

Am 24. Jan. 1908 mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs in die rechte Axilla inokuliert. (Exp. 32/17 J.)

Mäuse 1—10 am 14. Febr. 1908 mit 0,025 ccm Emulsion von Plattenepithelkrebs in die linke Axilla reinokuliert; gleichzeitig und mit derselben Dosis desselben Materials sind die Mäuse 11—19 als Kontrollen geimpft worden. (Exp. 32/24 C.)

Antikörper im Serum natürlich resistenter oder künstlich immunisierter Mäuse nachzuweisen. Durch histologische Untersuchung der Pfropfungen in immunen Mäusen kann kein direkter Beweis ihres Vorhandenseins erbracht werden. Ausgedehnte Untersuchungen Russells[1]) über die an der Impfstelle in normalen und Immuntieren sich abspielenden Vorgänge haben als wesentliches Resultat ergeben, daß in Immuntieren sowohl nach Vorbehandlung mit krebsigen wie mit normalen Geweben die von uns[2]) schon oft betonten und neuerdings auch von Gierke und Russel aufs deutlichste hervorgehobenen spezifischen Stroma- und Blutgefäßreaktionen ausbleiben. Wenn die Impfstelle bei immunen Tieren fremder Art untersucht wird, z. B. Ratten, die immun gegen Mäusetumoren oder -gewebe sind, so ist eine direkte tödliche Wirkung auf die Tumorzellen festzustellen: in derselben Tierart dagegen fallen alle Beweise dafür weg. Die Tumorzellen leben weiter: nur scheint ihre Fähigkeit, Fibroblasten und Angioblasten für ein neues Stützgewebe anzulocken, vollständig gelähmt zu sein; anstatt dessen spielen sich schließlich die Prozesse, die wir bei der Spontanheilung beschrieben haben, mit Ausgang in gewöhnliche Narbengewebe, ab. Durch diese Tatsachen ist es selbstverständlich, warum unsere jetzigen Bemühungen, die Schutzvorrichtungen des Körpers nachzuahmen, vorläufig hauptsächlich gegen neu eingeführte Zellen wirksam sind, dagegen auf schon vaskularisierte Tumoren weniger Einfluß entfalten.

Versuche, um solche Substanzen auf indirektem Wege nachzuweisen, haben ebenfalls negative Resultate ergeben. Wir haben versucht, ob neugeborene Junge von Müttern, die nach wiederholten Geschwulstinjektionen hochresistent waren, eine höhere Resistenz als normale Mäuse von demselben Alter zeigen. Ehrlichs Experimente über Ricinimmunität zeigten, daß Antikörper von der Mutter auf das Kind durch die Milch übertragen werden können. Es wäre

1) The nature of the resistance to the inoculation of cancer. Third Scientific Report.

2) Bashford, Murray and Cramer, Source of the Constituent Elements of New Growths obtained by Artificial Propagation. Second Scientific Report of the Imperial Cancer Research Fund, Part II, London 1905. —, Stroma is a Specific Reaction on the part of the Host. Ibidem. u.s.w.

auch denkbar, daß solche Stoffe durch den Placentarkreislauf übertragen werden könnten.

Anzahl der immunisierenden Injektionen der Mutter mit 0,25 ccm von Jensenschem Carcinom	Anzahl der Jungen	Alter in Wochen	Resultat von der Impfung der Jungen mit 0,02 g vom Jensenschen Tumor.			
			10 Tage nach der Impfung		17 Tage nach der Impfung	
			+	—	+	—
1mal	3	3—4	3	0	2	1
4 „	4	3	3	1	3	1
5 „	2	5—6	1	1	1	1
6 „	6	2 (fortwährend saugend)	6	0	5	0
6 „	2	3—4	2	0	2	0
6 „	4	4—5	2	2	2	2
Summe	21	—	17	4	15	5
Kontrollen 12 normale Jungen möglichst gleicher Größe			4	3	4	3

Die Tabelle zeigt die Resultate eines solchen Versuches. 21 Junge, 2—6 Wochen alt, von Mäusen, die wiederholt Injektionen von 0,25 g von Jensens Tumor bekommen hatten, wurden alle mit 0,02 g von Jensens Tumor injiziert. Gleichzeitig wurden 12 normale Mäuse von gleichem Alter als Kontrolle mit demselben Material geimpft. Die Resultate zeigen, daß Junge von immunen Eltern ebenso empfänglich wie normale Mäuse sind. Auch scheinen keine Antikörper in der Milch vorhanden zu sein, da 6 von diesen Jungen, 2 Wochen alt, sämtlich schnell wachsende Tumoren aufwiesen, während sie gleichzeitig die hochimmune, 6mal mit 0,25 ccm von Jensens Tumor vorbehandelte Mutter säugte.

Die für die künstlich hervorgerufene Geschwulstresistenz verantwortlichen Prozesse zeigen manche neue Charaktere im Vergleich mit den viel studierten Reaktionen gegen Infektionsträger und ihre Produkte. Sie zeigen einen sehr hohen Grad von Spezifizität, sowohl in bezug auf die Tierspecies als auch auf die individuellen Gewebe einer Species. Es ist nicht möglich gewesen, sie in neuen Tieren durch passive Immunisierung mit den Körperflüssigkeiten resistenter

Mäuse hervorzurufen; sie scheinen nicht von hochresistenten Müttern auf ihre Nachkommenschaft übertragen zu werden; und noch weniger ist es bis jetzt gelungen, diese Reaktionen in vitro nachzuahmen. Die einzige beobachtete Aenderung ist eine aktive Immunität in den resistenten Tieren selbst, nur durch den Gebrauch lebender Zellen als Indikator nachzuweisen.

Nichtsdestoweniger sind die Aenderungen, die künstlich hervorgerufen werden können, eklatant demonstrierbar. Das Bestehen von quantitativen Beziehungen zwischen Resistenzgrad und Menge des eingeführten krebsigen oder normalen Gewebes, sowie Größe der Impfdosis, mit welcher die Resistenz erprobt wurde, ist nachgewiesen worden. Wir sind zurzeit nicht imstande, zu entscheiden, ob diese Phänomene von in dem resistenten Tiere gebildeten und mit Molekülgruppen in den Carcinomzellen reagierenden Substanzen abhängen oder weniger leicht definierbare Aeußerungen einer vitalen Tätigkeit der Zellen sind.

Die experimentelle Krebsforschung hat uns schon vieles gelehrt über früher unbekannte das Krebswachstum hemmende oder fördernde Vorrichtungen des Körpers, auch hat sie unsere Aufmerksamkeit auf die wechselnden biologischen Eigenschaften der Krebszellen selbst und besonders auf die negative Wachstumsphase, während welcher die Krebszellen leichter wachstumshemmenden Einflüssen erliegen, gelenkt. Durch die Lösung der aufgeworfenen neuen Fragen, die durch morphologische Untersuchungen allein nicht aufgetaucht wären, dürfen wir ein noch viel tieferes Eindringen in die Schutzvorrichtungen des Körpers als Zellenstaat erwarten.

Die beschriebenen Beobachtungen zeigen, daß kaum in der Richtung eines Heilserums nach der Art eines antitoxischen Fortschritte zu erwarten sind, da die Körperflüssigkeiten keine resistenzsteigernden Eigenschaften in vitro oder auf andere Tiere übertragbare besitzen, auch kaum in der Richtung einer Vaccine, die die Entwickelung spontaner Krebse verhüten würde. In früheren Publikationen ist von uns mitgeteilt worden, daß gegen Geschwulstimpfung hochresistente Mäuse später spontane Tumoren entwickeln können, eine Beobachtung, die neulich von Thorel bestätigt wurde.

Gegen eine voreilige Anwendung irgendeines dieser Resultate in der Praxis muß ausdrücklich gewarnt werden, bis unsere Bemühungen, die Versuche auf Tiere mit spontanen, im Gegensatz zu transplantierten Tumoren auszudehnen, zu unzweideutigen Resultaten geführt haben; aber die erhaltenen Resultate ermutigen uns zu fortgesetzter Arbeit in der Hoffnung, daß es schließlich möglich sein wird, auch das Wachstum und besonders die Metastasierung der menschlichen Tumoren zu beherrschen. Bevor dieses Ziel erreicht werden kann, wird es nötig sein, den Mechanismus, durch welchen Mäuse künstlich refraktär gemacht werden, und gleichzeitig denjenigen, der für spontane Heilung verantwortlich ist, näher kennen zu lernen. Die Hoffnung, die experimentellen Resultate praktisch zu verwenden, muß in der Richtung von Nachahmung oder Verstärkung der natürlichen Heilungsvorgänge liegen.

Zusammenfassung.

Aus dem Studium von 70 transplantablen Tumoren von Maus und Ratte, welche Adeno- und Alveolärcarcinome der Mamma, Plattenepithelcarcinome, Spindelzellen-, Polymorphzellen- und Chondro-osteoid-Sarkome umfassen, sind wir zu folgenden Betrachtungen gelangt.

1) Die verschiedenen Primärtumoren zeigen verschiedene Stufen von bösartiger Umwandlung des Gewebes und diese primären Unterschiede zwischen den spontanen Tumoren, selbst desselben Organs, bleiben in den meisten Fällen, mit nur geringen Schwankungen während der fortgesetzten experimentellen Fortpflanzung bestehen.

2) Die höhere Angangsfähigkeit und größere Wachstumsschnelligkeit im Verlauf der fortgesetzten Ueberimpfung führen wir im wesentlichen auf eine vollkommenere Anpassung der Zellen an neue Wirtstiere und damit verbundene Erhöhung der anfänglichen wirksamen Dosis mit Verminderung der simultanen Immunisierung zurück, ohne daß eine wesentliche Aenderung der biologischen Charaktere der Zellen dabei beobachtet wird. In einzelnen Stämmen jedoch werden tiefergehende Aenderungen der Zellcharaktere während der künstlichen Fortpflanzung angetroffen, wie dies z. B. in der Ent-

wicklung von Sarkom und auch im Verlust des hämorrhagischen Charakters bei gewissen Mammacarcinomen zutage tritt.

3) Die bösartige Wucherung scheint nicht eine kontinuierlich vegetative zu sein. Die große Mehrzahl der Tumoren weist während der Fortpflanzung ausgesprochene Schwankungen ihrer vitalen Prozesse auf. Diese Schwankungen äußern sich durch Steigen und Sinken der prozentualischen Angangsfähigkeit, durch Perioden des rascheren und langsameren Wachstums, und durch wechselnde Empfindlichkeit gegen Veränderungen der Dosis, der Tierrasse und der Methodik überhaupt.

4) Natürliche Resistenz gegen Tumorimpfung beruht nicht auf dem Vorhandensein von natürlichen Antikörpern im Serum normaler Tiere, auch nicht auf einer wechselnden Avidität der Körperzellen für Nährstoffe. Verschiedene Tiere reagieren mit wechselnder Energie auf die Resorption von Tumorgewebe, und die natürliche Resistenz der Tiere wird durch die wechselnde Wirkung der simultanen Immunisierung auf noch nicht vollständig etablierte Geschwülste befriedigend erklärt. Aeltere Tiere bieten den Geschwulstzellen eine trägere Stromareaktion dar, und deswegen sind im allgemeinen ältere Tiere gegen Tumorimpfungen weniger empfindlich.

5) Eine gesteigerte Resistenz gegen Tumorimpfung kommt zum Vorschein unter folgenden Bedingungen. a) Nach Resorption von Tumorgewebe derselben Tierspecies; dagegen führt die Resorption von Tumormaterial von fremden Tierarten keine (bezw. verminderte) Resistenz herbei. Diese Resistenz ist um so höher, je näher histologisch verwandt das resorbierte Tumormaterial dem zur Resistenzprüfung verwendeten Tumor ist. b) Nach Resorption normaler Gewebe derselben Tierart und dabei wie mit der nach Tumorresorption hervorgerufenen Resistenz, auch spezifisch, und um so stärker, je näher Normalgewebe und Impftumor histologisch verwandt sind.

6) In vielen Fällen ruft Resorption krebsiger oder normaler Gewebe fremder Tierarten, anstatt Resistenz, Ueberempfindlichkeit der vorbehandelten Tiere hervor. Behandlung mit histologisch verschiedenen normalen Geweben derselben Tierart kann auch gelegentlich Hypersensibilität zur Folge haben.

7) Bei jeder Impfung (wenn nicht minimalste Dosen verwendet werden) findet eine Resorption von Tumorgewebe statt, und im Falle, daß die Anfangsdosis eine beträchtliche war, kann diese Resorption eine Steigerung der Resistenz für spätere Impfungen herbeiführen. Sie kann sogar einen Wachstumsstillstand oder totales Verschwinden gut angegangener Tumoren bedingen. Diese simultane Immunisierung spielt bei der Reinokulation positiver Tiere eine große Rolle, wie mit wechselnden Dosen ausgeführte Experimente lehren. Trotz dieser Erfahrungen bleibt es schwierig, bei positiven Tieren mit den gewöhnlichen, auf nicht tumortragenden Tieren erfolgreichen Methoden Resistenz zu erzeugen bezw. zu steigern. Daß dieselbe überhaupt möglich ist, deutet auf die Möglichkeit hin, Metastasenbildung endlich verhindern zu können.

8) Im Serum hochresistenter Tiere sind keine Substanzen demonstrierbar, welche in vitro oder in corpore neuer Tiere das Angehen der Impfungen verhindern, geschweige denn das Wachstum progressiver Tumoren hemmen. Selbst die Jungen, von resistenten Müttern geboren, sind ebenso empfindlich wie gleichaltrige Junge normaler Eltern. Resistenz ist nur als eine aktiv erworbene Veränderung aufzufassen, welche die chemotaktische Wirkung der Krebszellen auf die Gewebe (Bindegewebe und Gefäße) des Wirtstieres ändert. In solche Tiere eingeführt, erliegen die einer genügenden Ernährung entzogenen Krebszellen den gewöhnlichen gegen Fremdkörper wirksamen Schutzvorrichtungen des Körpers.

Die beigegebenen Abbildungen (41) sind genaue (mit Maßstab versehene) Wiedergaben der Versuchscharten. Sie zeigen Angangsprozentsatz und Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren, mit allen Einzelheiten der Vorbehandlung und Impfung der Tiere. Für eine weniger reduzierte Reproduktion dieser Protokolle sei auf den Third Scientific Report of Imperial Cancer Research Fund verwiesen.

